

PCT

世界知的所有権機関
国際事務局

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類6 A61K 47/30, 47/12, 37/02	A1	(11) 国際公開番号 WO99/36099 (43) 国際公開日 1999年7月22日 (22.07.99)		
<table border="1"><tr><td data-bbox="159 369 841 1060">(21) 国際出願番号 PCT/JP99/00086 (22) 国際出願日 1999年1月13日 (13.01.99) (30) 優先権データ 特願平10/6412 1998年1月16日 (16.01.98) (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP] 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号 Osaka, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 犀川 彰 (SAIKAWA, Akira) [JP/JP] 〒617-0823 京都府長岡京市長岡2丁目2番45号 岩田ビル3F Kyoto, (JP) 猪狩康孝 (IGARI, Yasutaka) [JP/JP] 〒658-0015 兵庫県神戸市東灘区本山南町5丁目4番25-503号 Hyogo, (JP) 畑 善夫 (HATA, Yoshio) [JP/JP] 〒560-0001 大阪府豊中市北緑丘2丁目1番12-703号 Osaka, (JP)</td><td data-bbox="846 369 1546 1060">(74) 代理人 弁理士 朝日奈忠夫, 外 (ASAHINA, Tadao et al.) 〒532-0024 大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka, (JP) (81) 指定国 AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーロパ特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). 添付公開書類 国際調査報告書 請求の範囲の補正の期限前の公開 ; 補正書受領の際には再公開される。</td></tr></table>			(21) 国際出願番号 PCT/JP99/00086 (22) 国際出願日 1999年1月13日 (13.01.99) (30) 優先権データ 特願平10/6412 1998年1月16日 (16.01.98) (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP] 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号 Osaka, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 犀川 彰 (SAIKAWA, Akira) [JP/JP] 〒617-0823 京都府長岡京市長岡2丁目2番45号 岩田ビル3F Kyoto, (JP) 猪狩康孝 (IGARI, Yasutaka) [JP/JP] 〒658-0015 兵庫県神戸市東灘区本山南町5丁目4番25-503号 Hyogo, (JP) 畑 善夫 (HATA, Yoshio) [JP/JP] 〒560-0001 大阪府豊中市北緑丘2丁目1番12-703号 Osaka, (JP)	(74) 代理人 弁理士 朝日奈忠夫, 外 (ASAHINA, Tadao et al.) 〒532-0024 大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka, (JP) (81) 指定国 AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーロパ特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). 添付公開書類 国際調査報告書 請求の範囲の補正の期限前の公開 ; 補正書受領の際には再公開される。
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/00086 (22) 国際出願日 1999年1月13日 (13.01.99) (30) 優先権データ 特願平10/6412 1998年1月16日 (16.01.98) (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP] 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号 Osaka, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 犀川 彰 (SAIKAWA, Akira) [JP/JP] 〒617-0823 京都府長岡京市長岡2丁目2番45号 岩田ビル3F Kyoto, (JP) 猪狩康孝 (IGARI, Yasutaka) [JP/JP] 〒658-0015 兵庫県神戸市東灘区本山南町5丁目4番25-503号 Hyogo, (JP) 畑 善夫 (HATA, Yoshio) [JP/JP] 〒560-0001 大阪府豊中市北緑丘2丁目1番12-703号 Osaka, (JP)	(74) 代理人 弁理士 朝日奈忠夫, 外 (ASAHINA, Tadao et al.) 〒532-0024 大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka, (JP) (81) 指定国 AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーロパ特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). 添付公開書類 国際調査報告書 請求の範囲の補正の期限前の公開 ; 補正書受領の際には再公開される。			
(54) Title: SUSTAINED RELEASE COMPOSITIONS, PROCESS FOR PRODUCING THE SAME AND UTILIZATION THEREOF (54) 発明の名称 徐放性組成物、その製造法および用途 (57) Abstract Sustained release compositions containing a physiologically active substance or its salt, hydroxynaphthoic acid or its salt and a biodegradable polymer or its salt; and drugs, etc. containing these compositions.				

(57)要約

生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩を含有してなる徐放性組成物その製造法および該徐放性組成物を含有する医薬などに関する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール
AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GN	ギニア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GW	ギニア・ビサウ	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BJ	ベナン	HR	クロアチア	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CA	カナダ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	US	米国
CF	中央アフリカ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IN	インド	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IS	アイスランド	NL	オランダ	YU	ユーゴスラビア
CI	コートジボアール	IT	イタリア	NO	ノールウェー	ZA	南アフリカ共和国
CM	カメルーン	JP	日本	NZ	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CN	中国	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CU	キューバ	KR	韓国	PT	ポルトガル		
CY	キプロス	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
CZ	チェコ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア		
DE	ドイツ	LC	セントルシア	SD	スーダン		
DK	デンマーク			SE	スウェーデン		
EE	エストニア						

明 細 書

徐放性組成物、その製造法および用途

5 技術分野

本発明は、生理活性物質の徐放性製剤およびその製造法に関する。

背景技術

特開平 7 - 9 7 3 3 4 号公報には、生理活性ペプチドまたはその塩と末端に
10 遊離のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーとからなる徐放性製剤お
よびその製造法が開示されている。

GB 2 2 0 9 9 3 7 号、GB 2 2 3 4 1 6 9 号、GB 2 2 3 4 8 9 6 号、G
B 2 2 5 7 9 0 9 号公報および EP 6 2 6 1 7 0 A 2 号公報には、別途調製し
たペプチド、タンパク質のパモ酸塩等の水不溶性塩を含んでなる生体内分解性
15 ポリマーを基剤とした組成物またはその製造法が開示されている。

WO 9 5 / 1 5 7 6 7 号公報には、cetorelix (LH-RH アンタゴニスト) の
エンボン酸塩 (パモ酸塩) およびその製造法が開示されていると同時に、この
パモ酸塩を生体内分解性ポリマーに封入してもそのペプチドの放出性はパモ酸
塩単独での場合と同様であることが記述されている。

20

発明の開示

生理活性物質を高含量で含有し、かつその初期過剰放出を抑制して長期にわ
たる安定した放出速度を実現できる新規組成物を提供する。

本発明者らは、上記の問題点を解決するために鋭意研究の結果、組成物を形
25 成させる際に生理活性物質とヒドロキシナフトエ酸を共存させることにより生
理活性物質を高含量で組成物中に取り込み、さらに生体内分解性ポリマー中に

両者を封入した場合は、生体内分解性ポリマーが存在しない条件下で調製した生理活性物質とヒドロキシナフトエ酸から形成される組成物からの生理活性物質の放出速度とは異なる速度で生理活性物質が放出され、その放出速度が生体内分解性ポリマーの特性やヒドロキシナフトエ酸の添加量によって制御可能であり、高含量においても確実に初期過剰放出を抑制して、非常な長期にわたる持続放出を実現させることができ、さらに研究を重ねた結果、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、

- (1) 生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩を含有してなる徐放性組成物、
- (2) 生理活性物質が生理活性ペプチドである第(1)項記載の徐放性組成物、
- (3) 生理活性物質が LH-RH 誘導体である第(2)項記載の徐放性組成物、
- (4) ヒドロキシナフトエ酸が 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸である第(1)項記載の徐放性組成物、
- (5) 生体内分解性ポリマーが α -ヒドロキシカルボン酸重合体である第(1)項記載の徐放性組成物、
- (6) α -ヒドロキシカルボン酸重合体が乳酸-グリコール酸重合体である第(5)項記載の徐放性組成物、
- (7) 乳酸とグリコール酸の組成モル%が 100/0 ~ 40/60 である第(6)項記載の徐放性組成物、
- (8) 乳酸とグリコール酸の組成モル%が 100/0 である第(7)項記載の徐放性組成物、
- (9) 重合体の重量平均分子量が約 3,000 ~ 約 100,000 である第(6)項記載の徐放性組成物、
- (10) 重量平均分子量が約 20,000 ~ 50,000 である第(9)項記載の徐放性組成物、

(11) LH-RH 誘導体が式

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

[式中、Y は DLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2Nal または DHis(ImBzl) を示し、
Z は NH-C₂H₅ または Gly-NH₂ を示す。] で表されるペプチドである第(3)項記載

5 の徐放性組成物、

(12) 重合体の末端のカルボキシル基量が重合体の単位質量(グラム)あたり
50-90 マイクロモルである第(6)項記載の徐放性組成物、

(13) ヒドロキシナフトエ酸またはその塩と LH-RH 誘導体またはその塩のモ
ル比が 3 対 4 ないし 4 対 3 である第(3)項記載の徐放性組成物、

10 (14) 徐放性組成物中、LH-RH 誘導体またはその塩が 14% (w/w) から 24%
(w/w) 含有される第(13)項記載の徐放性組成物、

(15) 生理活性物質またはその塩が微水溶性または水溶性である第(1)項
記載の徐放性組成物、

(16) 注射用である第(1)項記載の徐放性組成物、

15 (17) 生理活性物質またはその塩、生体内分解性ポリマーまたはその塩およ
びヒドロキシナフトエ酸またはその塩の混合液から溶媒を除去することを特徴
とする第(1)項記載の徐放性組成物の製造法、

(18) 生体内分解性ポリマーまたはその塩およびヒドロキシナフトエ酸また
はその塩を含有する有機溶媒溶液に生理活性物質またはその塩を混合、分散し、
20 次いで有機溶媒を除去することを特徴とする第(17)項記載の徐放性組成物
の製造法、

(19) 生理活性物質またはその塩が生理活性物質またはその塩を含有する水
溶液である第(18)項記載の徐放性組成物の製造法、

(20) 生理活性物質の塩が遊離塩基または酸との塩である第(17)項記載
25 の製造法、

(21) 第(1)項記載の徐放性組成物を含有してなる医薬、

(22) 第(3)項記載の徐放性組成物を含有してなる前立腺癌、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、子宮線維腫、思春期早発症、月経困難症もしくは乳癌の予防、治療剤または避妊剤、

5 (23) 生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩を含有してなる徐放性組成物、

(24) ヒドロキシナフトエ酸またはその塩を用いることを特徴とする徐放性組成物からの生理活性物質の初期過剰放出を抑制する方法、

(25) ヒドロキシナフトエ酸またはその塩を用いることを特徴とする徐放性組成物への生理活性物質の封入効率を向上する方法、

10 (26) 生理活性ペプチドのヒドロキシナフトエ酸塩、

(27) 水溶性または微水溶性である第(26)項記載の生理活性ペプチドのヒドロキシナフトエ酸塩、および

(28) 生理活性ペプチドのヒドロキシナフトエ酸塩を含有してなる徐放性組成物などを提供する。

15 さらに、本発明は、

(29) ヒドロキシナフトエ酸またはその塩の配合量が生理活性ペプチドまたはその塩1モルに対して約1～約7モル、好ましくは約1～約2モルである第(28)項記載の徐放性組成物、

20 (30) 生理活性物質またはその塩を含む液を内水相とし、生体内分解性ポリマーおよびヒドロキシナフトエ酸またはその塩を含む溶液を油相とするW/O型乳化物を製造し、次いで溶媒を除去することを特徴とする第(17)項記載の徐放性組成物の製造法、

(31) ヒドロキシナフトエ酸またはその塩を含む液を内水相とし、生理活性物質またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩を含む溶液を油相とするW/O型乳化物を製造し、次いで溶媒を除去することを特徴とする第(17)項記載の徐放性組成物の製造法、

25

(32) 生理活性ペプチドまたはその塩およびヒドロキシナフトエ酸またはその塩を混合、溶解し、次いで溶媒を除去することを特徴とする第(28)項記載の徐放性組成物の製造法、

および

- 5 (33) 溶媒の除去法が水中乾燥法である第(30)項～第(32)項のいずれかに記載の徐放性組成物の製造法などを提供する。

本発明で用いられる生理活性物質は、薬理学的に有用なものであれば特に限定を受けないが、非ペプチド化合物でもペプチド化合物でもよい。非ペプチド
10 化合物としては、アゴニスト、アンタゴニスト、酵素阻害作用を有する化合物などがあげられる。また、ペプチド化合物としては、例えば、生理活性ペプチドが好ましく、分子量約300～約40,000、好ましくは約400～約30,000、さらに好ましくは約500～約20,000の生理活性ペプチドなどが好適である

- 15 該生理活性ペプチドとしては、例えば、黄体形成ホルモン放出ホルモン(LH-RH)、インスリン、ソマトスタチン、成長ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン(GH-RH)、プロラクチン、エリスロポイエチン、副腎皮質ホルモン、メラノサイト刺激ホルモン、甲状腺ホルモン放出ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモン、バソプレシン、オキシトシン、
20 カルシトニン、ガストリン、セクレチン、パンクレオザイミン、コレシストキニン、アンジオテンシン、ヒト胎盤ラクトーゲン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、エンケファリン、エンドルフィン、キョウトルフィン、タフトシン、サイモポイエチン、サイモシン、サイモチムリン、胸腺液性因子、血中胸腺因子、腫瘍壊死因子、コロニー誘導因子、モチリン、デイノルフィン、ボンベシン、ニュー
25 ーロテンシン、セルレイン、ブラジキニン、心房性ナトリウム排泄増加因子、神経成長因子、細胞増殖因子、神経栄養因子、エンドセリン拮抗作用を有する

ペプチド類などおよびその誘導体、さらにはこれらのフラグメントまたはフラグメントの誘導体などが挙げられる。

本発明で用いられる生理活性物質はそれ自身であっても、薬理学的に許容される塩であってもよい。

- 5 このような塩としては、該生理活性物質がアミノ基等の塩基性基を有する場合、無機酸（無機の遊離酸とも称する）（例、炭酸、重炭酸、塩酸、硫酸、硝酸、ホウ酸等）、有機酸（有機の遊離酸とも称する）（例、コハク酸、酢酸、プロピオン酸、トリフルオロ酢酸等）などとの塩が挙げられる。

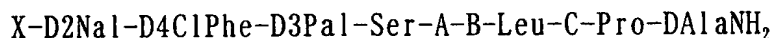
- 10 生理活性物質がカルボキシル基等の酸性基を有する場合、無機塩基（無機の遊離塩基とも称する）（例、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属など）や有機塩基（有機の遊離塩基とも称する）（例、トリエチルアミン等の有機アミン類、アルギニン等の塩基性アミノ酸類等）などとの塩が挙げられる。また、生理活性ペプチドは金属錯体化合物（例、銅錯体、亜鉛錯体等）を形成していてもよい。

- 15 該生理活性ペプチドの好ましい例としては、LH-RH誘導体であって、ホルモン依存性疾患、特に性ホルモン依存性癌（例、前立腺癌、子宮癌、乳癌、下垂体腫瘍など）、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、思春期早発症、月経困難症、無月経症、月経前症候群、多房性卵巢症候群等の性ホルモン依存性の疾患および避妊（もしくは、その休業後のリバウンド効果を利用した場合に
20 は、不妊症）に有効なLH-RH誘導体またはその塩が挙げられる。さらに性ホルモン非依存性であるがLH-RH感受性である良性または悪性腫瘍などに有効なLH-RH誘導体またはその塩も挙げられる。

- 25 LH-RH誘導体またはその塩の具体例としては、例えば、トリートメント ウイズ GnRH アナログ：コントラバーシス アンド パースペクティブ (Treatment with GnRH analogs: Controversies and perspectives) [パルテノン パブリッシング グループ (株) (The Parthenon Publishing Group Ltd.)]

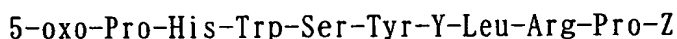
発行 1996 年]、特表平 3-503165 号公報、特開平 3-101695 号、同 7-97334 号および同 8-259460 号公報などに記載されているペプチド類が挙げられる。

- 5 LH-RH 誘導体としては、LH-RH アゴニストまたは LH-RH アンタゴニストが挙げられるが、LH-RH アンタゴニストとしては、例えば、一般式〔I〕



- 〔式中、X は N(4H₂-furoyl)Gly または NAc を、A は NMeTyr、Tyr、Aph(Atz)、NMeAph(Atz) から選ばれる残基を、B は DLys(Nic)、DCit、DLys(AzaglyNic)、DLys(AzaglyFur)、DhArg(Et₂)、DAph(Atz) および DhCi から選ばれる残基を、C は Lys(Nisp)、Arg または hArg(Et₂) をそれぞれ示す〕で表わされる生理活性ペプチドまたはその塩などが用いられる。

LH-RH アゴニストとしては、例えば、一般式〔II〕



- 15 〔式中、Y は DLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2Nal および DHis(ImBzl) から選ばれる残基を、Z は NH-C₂H₅ または Gly-NH₂ をそれぞれ示す〕で表わされる生理活性ペプチドまたはその塩などが用いられる。特に、Y が DLeu で、Z が NH-C₂H₅ であるペプチド（即ち、5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅ で表されるペプチド）が好適である。

- 20 これらのペプチドは、前記文献あるいは公報記載の方法あるいはこれに準じる方法で製造することができる。

本明細書中で使用される略号の意味は次のとおりである。

略号	名称
----	----

N(4H ₂ -furoyl)Gly :	N-テトラヒドロフロイルグリシン残基
---------------------------------	--------------------

- 25 NAc : N-アセチル基

D2Nal : D-3-(2-ナフチル)アラニン残基

D4ClPhe : D-3-(4-クロロ) フェニルアラニン残基

D3Pal : D-3-(3-ピリジル) アラニン残基

NMeTyr : N-メチルチロシン残基

5 Aph(Atz) : N-[5'-(3'-アミノ-1'H-1', 2', 4'-トリアゾリル)]フェニルアラニン残基

NMeAph(Atz) : N-メチル-[5'-(3'-アミノ-1'H-1', 2', 4'-トリアゾリル)]フェニルアラニン残基

DLys(Nic) : D-(e-N-ニコチノイル) リシン残基

Dcit : D-シトルリン残基

10 DLys(AzaglyNic) : D-(アザグリシルニコチノイル) リシン残基

DLys(AzaglyFur) : D-(アザグリシルフラニル) リシン残基

DhArg(Et₂) : D-(N, N'-ジエチル)ホモアルギニン残基

Daph(Atz) : D-N-[5'-(3'-アミノ-1'H-1', 2', 4'-トリアゾリル)]
フェニルアラニン残基

15 DhCi : D-ホモシトルリン残基

Lys(Nisp) : (e-N-イソプロピル) リシン残基

hArg(Et₂) : (N, N'-ジエチル)ホモアルギニン残基

その他アミノ酸に関し、略号で表示する場合、IUPAC-IUB コミッション・オブ・バイオケミカル・ノーメンクレーチャー(Commission on Biochemical
20 Nomenclature) (ヨーロッパ・ジャーナル・オブ・バイオケミストリー
(European Journal of Biochemistry)第138巻、9~37頁(1984年))による略号または該当分野における慣用略号に基づくものとし、また、アミノ酸に関して光学異性体がありうる場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

25 本発明に用いられるヒドロキシナフトエ酸は、ナフタレンの異なる炭素に1つの水酸基と1つのカルボキシル基が結合したものである。従って、カルボキシ

ル基の位置がナフタレン環の1位と2位であるそれぞれに対して水酸基の位置が異なる合計14種の異性体が存在する。そしてこの中の任意の異性体を用いてよく、またこれらの任意の割合の混合物を用いてもよい。後述するが、酸解離定数の大きなものが好ましく、あるいは pK_a ($pK_a = -\log_{10} K_a$, K_a は酸解離定数を表す)の小さいものが好ましい。そして微水溶性のものが好ましい。

また、アルコール類(例えば、エタノール、メタノール等)に可溶であるものが好ましい。「アルコール類に可溶」とは例えばメタノールに対して10g/L以上であることを意味する。

10 上記のヒドロキシナフトエ酸異性体の pK_a としては、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸の値($pK_a = 2.708$ 、化学便覧 基礎編Ⅱ、日本化学会、昭和44年9月25日発行)のみが知られているが、ヒドロキシ安息香酸の3種の異性体の pK_a を比較することによって有用な知見が得られる。すなわち、 m -ヒドロキシ安息香酸と p -ヒドロキシ安息香酸の pK_a が4以上であるの
15 に対して o -ヒドロキシ安息香酸(サリチル酸)の pK_a ($= 2.754$)は極端に小さい。従って、上記14種の異性体のなかでも、ナフタレン環の隣接する炭素原子にカルボキシル基と水酸基が結合した、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸、1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸および2-ヒドロキシ-1-ナフトエ酸が好ましい。さらには、ナフタレンの3位の炭素に水酸基が、2位の炭素にカルボキシル基が結合した3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸が好適である。
20

ヒドロキシナフトエ酸は塩であってもよい。塩としては、例えば、無機塩基(例、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属など)や有機塩基(例、トリエチルアミン等の有機アミン類、アルギニン等の塩基性アミノ酸類等)などとの塩、または遷移金属(例、
25 亜鉛、鉄、銅など)との塩および錯塩などが挙げられる。

以下に、本発明の生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩の調製方法を例示する。

(1) ヒドロキシナフトエ酸の含水有機溶媒溶液を弱塩基性イオン交換カラムに

通して吸着させ、そして飽和させる。次いで含水有機溶媒を通して過剰のヒドロキシナフトエ酸を除去した後に生理活性物質またはその塩の含水有機溶媒溶液を通してイオン交換を行わせて、得られた流出液から溶媒を除去すればよい。該含水有機溶媒中の有機溶媒としては、アルコール類（例、メタノール、エタノール等）、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミドなどが用いられる。塩を析出させるための溶媒を除去する方法は、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法が用いられる。例えば、ロータリーエヴァポレーターなどを用いて真空度を調節しながら溶媒を蒸発させる方法などが挙げられる。

(2) 予め、強塩基性イオン交換カラムの交換イオンを水酸化物イオンに交換しておき、これに生理活性物質またはその塩の含水有機溶媒溶液を通してそれらの塩基性基を水酸化型に換える。回収した流出液に当量以下のヒドロキシナフトエ酸を加えて溶解し、次いで濃縮して析出した塩を、必要な場合には水洗して、乾燥すればよい。

生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩は、用いる生理活性物質にもよるが、微水微溶性であるため、特に生理活性ペプチドの該塩自身が徐放能を発揮して生理活性物質の徐放性製剤に用いることができるし、また、さらに徐放性組成物を製造することもできる。

本発明に用いられる生体内分解性ポリマーとしては、例えば、 α -ヒドロキシモノカルボン酸類（例、グリコール酸、乳酸等）、 α -ヒドロキシジカルボン酸類（例、リンゴ酸）、 α -ヒドロキシトリカルボン酸（例、クエン酸）等の α -ヒドロキシカルボン酸類の1種以上から合成され、遊離のカルボキシル基を有する重合体、共重合体、またはこれらの混合物；ポリ（ α -シアノアクリル酸エステル）；ポリアミノ酸（例、ポリ（ γ -ベンジル-L-グルタミン酸）等）；無水マレイン酸系共重合体（例、スチレン-マレイン酸共重合体等）などが用いられる。

モノマーの結合様式としては、ランダム、ブロック、グラフトのいずれでもよい。また、上記 α -ヒドロキシモノカルボン酸類、 α -ヒドロキシジカルボン酸類、 α -ヒドロキシトリカルボン酸類が分子内に光学活性中心を有する場合

合、D-、L-、DL-体のいずれを用いてもよい。これらの中でも、乳酸-グリコール酸重合体（以下、ポリ（ラクチド- α -グリコリド）、ポリ（乳酸- α -グリコール酸）あるいは乳酸-グリコール酸共重合体と称することもあり、特に明示しない限り、乳酸、グリコール酸のホモポリマー（重合体）
5 及びコポリマー（共重合体）を総称する。また乳酸ホモポリマーは乳酸重合体、ポリ乳酸、ポリラクチドなどと、またグリコール酸ホモポリマーはグリコール酸重合体、ポリグリコール酸、ポリグリコリドなどと称される場合がある）、ポリ（ α -シアノアクリル酸エステル）などが好ましい。さらに好ましくは、乳酸-グリコール酸重合体であり、より好ましくは、末端に遊離のカルボキシル基を有する乳酸-グリコール酸重合体である。
10

生体内分解性ポリマーは塩であってもよい。塩としては、例えば、無機塩基（例、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属など）や有機塩基（例、トリエチルアミン等の有機アミン類、アルギニン等の塩基性アミノ酸類等）などとの塩、または遷移金属（例、
15 亜鉛、鉄、銅など）との塩および錯塩などが挙げられる。

生体内分解性ポリマーとして乳酸-グリコール酸重合体を用いる場合、その組成比（モル%）は約100/0～約40/60が好ましく、約100/0～約50/50がより好ましい。また、組成比が100/0である乳酸ホモポリマーも好ましく用いられる。

20 該「乳酸-グリコール酸重合体」の最小繰返し単位の一つである乳酸の光学異性体比は、D-体/L-体（モル/モル%）が約75/25～約25/75の範囲のものが好ましい。このD-体/L-体（モル/モル%）は、特に約60/40～約30/70の範囲のものが汎用される。

25 該「乳酸-グリコール酸重合体」の重量平均分子量は、通常、約3,000～約100,000、好ましくは約3,000～約60,000、さらに好ましくは約3,000～約50,000、特に好ましくは約20,000～約50,000。

0, 000のものが用いられる。

また、分散度（重量平均分子量／数平均分子量）は、通常約1.2～約4.0が好ましく、さらには約1.5～3.5が特に好ましい。

該「乳酸－グリコール酸重合体」の遊離のカルボキシル基量は、重合体の単位質量（グラム）あたり通常約20～約1000 μ mol（マイクロモル）が好ましく、さらには約40～約1000 μ mol（マイクロモル）が特に好ましい。

本明細書における重量平均分子量、数平均分子量および分散度とは、重量平均分子量が1, 110, 000、707, 000、455, 645、354, 000、189, 000、156, 055、98, 900、66, 437、37, 200、17, 100、9, 830、5, 870、2, 500、1, 303、504の15種類の単分散ポリスチレンを基準物質としてゲルパーミエーションクロマトグラフィー（GPC）で測定したポリスチレン換算の分子量および算出した分散度をいう。測定は、高速GPC装置（東ソー製、HLC-8120 GPC、検出方式は示差屈折率による）、GPCカラムKF804L×2（昭和電工製）を使用し、移動相としてクロロホルムを用いる。流速は1 ml/minでおこなう。

本明細書における遊離のカルボキシル基量とはラベル化法により求めたもの（以下、「ラベル化法によるカルボキシル基量」と称する）をいう。具体的にポリ乳酸の場合について述べると、ポリ乳酸 Wmgを5 N塩酸／アセトニトリル（v/v=4/96）混液2 mlに溶解し、0.01 M o-ニトロフェニルヒドラジン塩酸塩（ONPH）溶液（5 N塩酸／アセトニトリル／エタノール=1.02/35/15）2 mlと0.15 M 1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）-カルボジイミド塩酸塩溶液（ピリジン／エタノール=4 v/96 v）2 mlを加えて40℃で30分反応させた後溶媒を留去する。残滓を水洗（4回）した後、アセトニトリル2 mlで溶解し、0.5 mol/lのエタノール性水酸化カリウム溶液1 mlを加えて60℃で30分反応

させる。反応液を 1.5 N 水酸化ナトリウム水溶液で希釈して Y ml とし、1.5 N 水酸化ナトリウム水溶液を対象として 544 nm 吸光度 A (／cm) を測定する。一方、DL-乳酸水溶液を基準物質として、その遊離カルボキシル基量 C mol / L をアルカリ滴定で求め、また ONPH ラベル化法で DL-乳酸ヒドラジドとしたときの 544 nm 吸光度を B (／cm) とするとき、重合体の単位質量 (グラム) あたりの遊離のカルボキシル基のモル量は以下の数式で求められる。

$$[\text{COOH}] \text{ (mol / g)} = (\text{AYC}) / (\text{WB})$$

また、該「カルボキシル基量」は生体内分解性ポリマーをトルエン-アセトン-メタノール混合溶媒に溶解し、フェノールフタレインを指示薬としてこの溶液をアルコール性水酸化カリウム溶液でカルボキシル基を滴定して求めることもできる (以下、この方法によって求めた値を「アルカリ滴定法によるカルボキシル基量」と称する) が、滴定中にポリエステル主鎖の加水分解反応を競合する結果、滴定終点が不明確になる可能性があり上記ラベル化法で定量するのが望ましい。

生体内分解性ポリマーの分解・消失速度は共重合組成、分子量あるいは遊離カルボキシル基量によって大きく変化するが、乳酸-グリコール酸重合体の場合、一般的にはグリコール酸分率が低いほど分解・消失が遅いため、グリコール酸分率を低くするかあるいは分子量を大きくし、かつ遊離カルボキシル基量を少なくすることによって放出期間を長くすることができる。しかし、遊離カルボキシル基量は生理活性物質の製剤への取り込み率に影響するので一定値以上必要である。この故に、長期間 (例えば、6 カ月以上) 型徐放性製剤用の生体内分解性ポリマーとするには、乳酸-グリコール酸重合体の場合、上記の重量平均分子量が約 20,000 ～ 約 50,000 で、かつ遊離カルボキシル基量が約 30 ～ 約 95 $\mu\text{mol} / \text{g}$ 、好ましくは約 40 ～ 約 95 $\mu\text{mol} / \text{g}$ 、より好ましくは約 50 ～ 約 90 $\mu\text{mol} / \text{g}$ であるポリ乳酸 (例、D-乳酸、L-乳

酸、DL-乳酸など、特にDL-乳酸などが好ましい)が好ましい。

該「乳酸-グリコール酸重合体」は、例えば、乳酸とグリコール酸からの無触媒脱水重縮合(特開昭61-28521号)あるいはラクチドとグリコリド等の環状ジエステル化合物からの触媒を用いた開環重合(Encyclopedic
5 Handbook of Biomaterials and Bioengineering Part A: Materials, Volume 2, Marcel Dekker, Inc. 1995 年)で製造できる。上記の公知の開環重合方法によって得られる重合体は、得られる重合体の末端に遊離のカルボキシル基を有しているとは限らないが、例えば、EP-A-0839525号に記載の加水分解反応に付すことにより、単位質量当たりにある程度のカルボキシル基量を有
10 する重合体に改変することができ、これを用いることもできる。

上記の「末端に遊離のカルボキシル基を有する乳酸-グリコール酸重合体」は公知の製造法(例えば無触媒脱水重縮合法、特開昭61-28521号公報参照)で問題なく製造でき、あるいは、下記の方法によっても製造できる。

(1) まず、カルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体(例、
15 D-乳酸 tert-ブチル、L-乳酸ベンジルなど)またはカルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体(例、タルトロン酸ジベンジル、2-ヒドロキシエチルマロン酸ジ tert-ブチルなど)の存在下、重合触媒を用いて環状エステル化合物を重合反応に付す。

上記の「カルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体」または「カルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体」とは、例
20 えば、カルボキシル基(-COOH)がアミド(-CONH₂)化またはエステル(-COOR)化されているヒドロキシカルボン酸誘導体などがあげられるが、なかでも、カルボキシル基(-COOH)がエステル(-COOR)化されているヒドロキシカルボン酸誘導体などが好ましい。

25 ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、tert-ブチルなどのC₁₋₆アルキル基、例え

ば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの C_{3-8} シクロアルキル基、例えば、フェニル、 α -ナフチルなどの C_{6-12} アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル- C_{1-2} アルキル基もしくは α -ナフチルメチルなどの α -ナフチル- C_{1-2} アルキル基などの C_{7-14} アラルキル基などがあげられる。

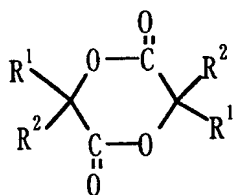
5 なかでも、tert-ブチル基、ベンジル基などが好ましい。

該「環状エステル化合物」とは、例えば環内に少なくとも1つのエステル結合を有する環状化合物をいう。具体的には、環状モノエステル化合物（ラクトン類）または環状ジエステル化合物（ラクチド類）などがあげられる。

10 該「環状モノエステル化合物」としては、例えば、4員環ラクトン（ β -プロピオラクトン、 β -ブチロラクトン、 β -イソバレロラクトン、 β -カプロラクトン、 β -イソカプロラクトン、 β -メチル- β -バレロラクトンなど）、5員環ラクトン（ γ -ブチロラクトン、 γ -バレロラクトンなど）、6員環ラクトン（ δ -バレロラクトンなど）、7員環ラクトン（ ϵ -カプロラクトンなど）、p-ジオキサノン、1,5-ジオキセパン-2-オンなどがあげられる。

15 該「環状ジエステル化合物」としては、

例えば、式



20 (式中、 R^1 および R^2 はそれぞれ同一または異なって、水素原子またはメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、t-ブチルなどの C_{1-6} アルキル基を示す)で表される化合物などがあげられ、なかでも、 R^1 が水素原子で R^2 がメチル基、 R^1 および R^2 がそれぞれ水素原子であるラクチドなどが好ましい。

具体的には、たとえばグリコリド、L-ラクチド、D-ラクチド、DL-ラクチド、

meso-ラクチド、3-メチル-1, 4-ジオキサン-2, 5-ジオン（光学活性体も含む）などがあげられる。

該「重合触媒」としては、例えば有機スズ系触媒（例、オクチル酸スズ、ジラウリル酸ジ-n-ブチルスズ、テトラフェニルスズなど）、アルミ系触媒（例、
5 トリエチルアルミニウムなど）、亜鉛系触媒（例、ジエチル亜鉛など）などがあげられる。

反応後の除去の容易さの観点からは、アルミ系触媒、亜鉛系触媒が好ましく、さらには、残存した場合の安全性の観点からは亜鉛系触媒が好ましい。

重合触媒の溶媒としては、ベンゼン、ヘキサン、トルエンなどが用いられ、
10 中でもヘキサン、トルエンなどが好ましい。

「重合方法」は、反応物を融解状態にして行う塊状重合法または反応物を適当な溶媒（例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン、デカリン、ジメチルホルムアミドなど）に溶解して行う溶液重合法を用いればよい。溶媒としては、トルエン、キシレンなどが好ましい。重合温度は特に限定されるものではないが、
15 塊状重合の場合、反応開始時に反応物を融解状態に至らしめる温度以上、通常100～300℃であり、溶液重合の場合、通常室温～150℃であり、反応温度が反応溶液の沸点を越えるときは、凝縮器を付けて還流するか、または耐圧容器内で反応させればよい。重合時間は重合温度、そのほかの反応条件や目的とする重合体の物性などを考慮して適宜定められるが、例えば10分～72
20 時間である。反応後は、必要であれば反応混合物を適当な溶媒（例えば、アセトン、ジクロロメタン、クロロホルムなど）に溶解し、酸（例えば、塩酸、無水酢酸、トリフルオロ酢酸など）で重合を停止させた後、常法によりこれを目的物を溶解しない溶媒（例えば、アルコール、水、エーテル、イソプロピルエーテルなど）中に混合するなどして析出させ、ω端に保護されたカルボキシル
25 基を有するポリマーを単離すればよい。

本願の重合方法は、従来のメタノールなどのいわゆるプロトン性連鎖移動剤

の代わりにカルボキシル基が保護されたヒドロキシカルボン酸誘導体（例、D-乳酸 tert-ブチル、L-乳酸ベンジルなど）またはカルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体（例、タルトロン酸ジベンジル、2-ヒドロキシエチルマロン酸ジ tert-ブチルなど）などが用いられる。

- 5 このようにカルボキシル基が保護されたヒドロキシカルボン酸誘導体（例、D-乳酸 tert-ブチル、L-乳酸ベンジルなど）またはカルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体（例、タルトロン酸ジベンジル、2-ヒドロキシエチルマロン酸ジ tert-ブチルなど）などをプロトン性連鎖移動剤に用いることによって、①分子量を仕込み組成によって制御でき、②重合後に脱保護反応に付すことによって、得られる生体内分解性ポリマーの ω 端にカルボキシル基を遊離させることができる。

（2）次に、上記（1）の重合反応によって得られた ω 端に保護されたカルボキシル基を有するポリマーを脱保護反応に付すことにより目的とする ω 端に遊離のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーを得ることができる。

- 15 該保護基は自体公知の方法により脱離できる。このような方法としては、ポリ（ヒドロキシカルボン酸）のエステル結合に影響を与えずに保護基を除去することが可能な方法であればいずれを用いてもよいが、具体的には、例えば還元、酸分解などの方法が挙げられる。

- 20 該還元方法としては、例えば触媒（例、パラジウム炭素、パラジウム黒、酸化白金など）を用いる接触還元、液体アンモニウム中でのナトリウムによる還元、ジチオスレイトールによる還元などが挙げられる。例えば、 ω 端にベンジル基で保護されたカルボキシル基を有するポリマーを接触還元する場合、具体的にはポリマーを酢酸エチル、ジクロロメタン、クロロホルムなどに溶解したものにパラジウム炭素を添加し、激しく攪拌しながら室温で水素を約20分～
25 約4時間通気することで脱保護できる。

酸分解方法としては、例えば無機酸（例、フッ化水素、臭化水素、塩化水素

など)あるいは有機酸(例、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸、トリフル
オロメタンスルホン酸など)またはこれらの混合物などによる酸分解などが挙
げられる。また、必要に応じて、酸分解の際、カチオン・スカベンジャー(例、
アニソール、フェノール、チオアニソールなど)を適宜添加してもよい。例え
5 ば、 ω 端に tert-ブチル基で保護されたカルボキシル基を有するポリマーを酸
分解する場合、具体的にはポリマーをジクロロメタン、キシレン、トルエンな
どに溶解したものにトリフルオロ酢酸を適当量加えて、あるいはポリマーをト
リフルオロ酢酸で溶解して室温で約1時間攪拌することで脱保護できる。

好ましくは、該酸分解法は重合反応直後に行ってもよく、その場合は重合停
10 止反応を兼ねることができる。

さらに必要に応じて、上記の脱保護反応によって得られたポリマーを酸加水
分解反応に付すことにより、該ポリマーの重量平均分子量、数平均分子量ある
いは末端カルボキシル基量を目的に応じて調節することができる。具体的には、
例えば、EP-A-0839525号に記載の方法またはそれに準じた方法に
15 よって行うことができる。

前記のようにして得られた生体内分解性ポリマーは、徐放性製剤を製造する
ための基剤として用いることができる。

さらには末端に特定されない遊離のカルボキシル基を有する重合体は公知の
製造法(例えば、WO94/15587号公報参照)で製造できる。

20 また、開環重合後の化学的処理によって末端を遊離のカルボキシル基にした乳
酸-グリコール酸重合体は例えばベーリンガー インゲルハイム(Boehringer
Ingelheim KG)から市販されているものを用いてもよい。

生体内分解性ポリマーは塩(生体内分解性ポリマーの塩としては例えば前述の
塩などがあげられる)であってもよく、その製造方法としては、例えば、(a)
25 上記のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーを有機溶媒に溶解したも
のと無機塩基(例、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マ

グネシウム等のアルカリ土類金属など)や有機塩基(例、トリエチルアミン等の有機アミン類、アルギニン等の塩基性アミノ酸類等)のイオンを含む水溶液を混合してイオン交換反応を行わせた後に、塩となったポリマーを単離する、

- (b) 上記のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーを有機溶媒に溶解したものに上記(a)で列挙した塩基の弱酸塩(例えば、酢酸塩、グリコール酸塩)を溶解した後に、塩となったポリマーを単離する、(c) 上記のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーを有機溶媒に溶解したものに遷移金属(例、亜鉛、鉄、銅など)の弱酸塩(例えば、酢酸塩、グリコール酸塩)もしくは酸化物を混合した後に塩となったポリマーを単離する、などが挙げられる。

- 10 長期間(例えば、6カ月以上)型徐放性製剤用の生体内分解性ポリマーとしては、上記の方法で製造した「末端に遊離のカルボキシル基を有する乳酸-グリコール酸重合体」が好適である。

- 本発明の組成物における生理活性物質の重量比は、生理活性物質の種類、所望の薬理効果および効果の持続期間などによって異なるが、生理活性物質またはその塩とヒドロキシナフトエ酸またはその塩と生体内分解性ポリマーまたはその塩の三者を含有する徐放性組成物の場合、その三者の和に対して、例えば生理活性ペプチドまたはその塩の場合、約0.001~約50重量%、好ましくは約0.02~約40重量%、より好ましくは約0.1~30重量%、最も好ましくは約14~24重量%であり、非ペプチド性生理活性物質またはその塩の場合、約0.01~80重量%、好ましくは約0.1~50重量%である。
- 生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩を含む場合でも同様な重量比である。
- 生理活性ペプチド(仮に(A)と称する)とヒドロキシナフトエ酸(仮に(B)と称する)との塩を含有してなる徐放性組成物の場合、(A)と(B)との塩の和に対して、(A)の重量比は通常約5~約90重量%、好ましくは約10~約85重量%、より好ましくは約15~約80重量%、特に好ましくは約30~約80重量%である。

生理活性物質またはその塩とヒドロキシナフトエ酸またはその塩と生体内分解性ポリマーまたはその塩の三者を含有する徐放性組成物の場合、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩の配合量は、好ましくは、生理活性物質またはその塩 1 モルに対して、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩が約 1 / 2 ~ 約 2 モル、
5 約 3 / 4 ~ 約 4 / 3 モル、特に好ましくは約 4 / 5 ~ 約 6 / 5 モルである。

本発明の組成物の設計を、生理活性物質、ヒドロキシナフトエ酸および生体内分解性ポリマーの三者を含有する徐放性組成物について、生理活性物質が塩基性である場合を例に用いて以下に述べる。この場合、組成物中には塩基として生理活性物質が、酸としてヒドロキシナフトエ酸が共存しており、それらが
10 遊離体あるいは塩として組成物中に配合された場合のいずれにおいても、組成物製造時のある時点において含水状態あるいは微量の水の存在下でおのおの解離平衡が成り立っている。微水溶性のヒドロキシナフトエ酸が生理活性物質と形成する塩は、該生理活性物質の特性にもよるが微水溶性と考えられるため、解離平衡はこのような微水溶性塩形成の側に傾く。

15 塩基性の生理活性物質を高含量に含む組成物を製造するには、上記解離平衡から考えて、生理活性物質のほとんどをプロトン化して上記微水溶性塩にすることが望ましい。このためには、少なくとも生理活性物質またはその塩と当量に近いヒドロキシナフトエ酸またはその塩を配合するのが望ましい。

次に、組成物中に包含された生理活性物質の徐放機構を以下に述べる。生理
20 活性物質は上記の配合組成ではほとんどがプロトン化されて、対イオンを伴った状態で存在している。対イオンは、主にヒドロキシナフトエ酸（好ましくはヒドロキシナフトエ酸）である。組成物が生体中に投与された後は、生体内分解性ポリマーの分解によって経時的にそのオリゴマーおよびモノマーが生成し始めるが、該ポリマーが乳酸-グリコール酸重合体である場合は、生成するオリゴマー（乳酸-グリコール酸オリゴマー）およびモノマー（乳酸またはグリ
25 コール酸）は必ず 1 個のカルボキシル基を有しており、これらも生理活性物質

の対イオンになり得る。生理活性物質の放出は電荷の移動を伴わない、すなわち対イオンを伴った塩として行われるが、移動可能な対イオン種としては上述のようにヒドロキシナフトエ酸、乳酸-グリコール酸オリゴマー（移動可能な程度の分子量の）およびモノマー（乳酸またはグリコール酸）があげられる。

- 5 複数の酸が共存する場合には、その組成比にもよるが一般的に強酸の塩が優先的に生ずる。ヒドロキシナフトエ酸の pK_a は、例えば、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸のそれは 2.708（化学便覧 基礎編Ⅱ、日本化学会、昭和44年9月25日発行）である。一方、乳酸-グリコール酸オリゴマーのカルボキシル基のそれは知られていないが、乳酸またはグリコール酸の pK_a
- 10 (=3.86 または 3.83) を基礎に、「置換基導入による自由エネルギー変化は加成則で近似可能」との原理に従って計算できる。解離定数に対する置換基の寄与は求められており利用することができる（Table 4.1 in "pKa Prediction for Organic Acid and Bases", D. D. Perrin, B. Dempsey and E. P. Serjeant, 1981）。ヒドロキシル基とエステル結合に対してはそれぞれ、

15
$$\Delta pK_a(OH) = -0.90$$

$$\Delta pK_a(\text{エステル結合}) = -1.7$$

なので、乳酸-グリコール酸オリゴマーのカルボキシル基の pK_a は、解離基に最も近いエステル結合の寄与を考慮して、

20
$$pK_a = pK_a(\text{乳酸またはグリコール酸}) - \Delta pK_a(OH) + \Delta pK_a(\text{エステル結合}) = 3.06 \text{ または } 3.03$$

- と求められる。従って、ヒドロキシナフトエ酸は乳酸（ $pK_a = 3.86$ ）、グリコール酸（ $pK_a = 3.83$ ）、さらには乳酸-グリコール酸オリゴマーよりも強い酸であるから、上記組成物中ではヒドロキシナフトエ酸と生理活性物質との塩が優先的に生成していると考えられ、その塩の特性が、組成物中から
- 25 の生理活性物質の徐放特性を支配的に決定すると考えられる。該生理活性物質としては上述の生理活性物質などがあげられる。

ここにおいて、ヒドロキシナフトエ酸が生理活性物質と形成する塩が微水溶性であって水不溶性でないことが徐放機構に好影響をあたえる。すなわち、上記酸解離定数の考察で明らかにしたように移動可能な生理活性物質の塩としては、放出の初期には上記乳酸－グリコール酸オリゴマーおよびモノマーよりも

5 強酸であるヒドロキシナフトエ酸の塩が優勢に存在する結果、その塩の溶解性、体組織への分配性が、生理活性物質の放出速度の決定因子となるため、ヒドロキシナフトエ酸の配合量で薬物の初期放出パターンを調節し得る。その後、ヒドロキシナフトエ酸の減少および生体内分解性ポリマーの加水分解によって生ずるオリゴマーおよびモノマーの増大に伴い、オリゴマーおよびモノマーを対

10 イオンとする生理活性物質の放出機構が徐々に優勢となり、ヒドロキシナフトエ酸が事実上該「組成物」から消失した場合でも安定な生理活性物質の放出が保たれる。また、徐放性組成物の製造時の生理活性物質の取り込み効率をあげること、および取り込まれた生理活性物質の投与後の初期過剰放出を抑制することも説明できる。

15 生理活性ペプチドのヒドロキシナフトエ酸塩を含む徐放性組成物におけるヒドロキシナフトエ酸の役割も前記の機構により説明可能である。

本明細書における「水不溶性」とは、該物質を40℃以下の温度で、蒸留水中で4時間攪拌したときに、その溶液1L中に溶解する物質の質量が25mg以下の場合をいう。

20 本明細書における「微水溶性」とは、上記質量が25mgより大きく、5g以下の場合をいう。該物質が生理活性物質の塩である場合は、上記操作において溶解する生理活性物質の質量をもって上記定義を適用する。

本明細書における徐放性組成物の形態は特に限定されないが、微粒子の形態が好ましく、マイクロスフェア（生体内分解性ポリマーを含む徐放性組成物の場合はマイクロカプセルとも称する）の形態が特に好ましい。また、本明細書

25 におけるマイクロスフェアとは、溶液に分散させることができる注射可能な球

状の微粒子のことをいう。その形態の確認は、例えば、走査型電子顕微鏡による観察で行うことができる。

発明を実施するための最良の形態

- 5 本発明の生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩を含有する徐放性組成物、例えば、マイクロカプセルの製造法を例示する。

(I) 水中乾燥法

(i) O/W法

- 10 本方法においては、まずヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩の有機溶媒溶液を作製する。本発明の徐放性製剤の製造の際に使用する有機溶媒は、沸点が120℃以下であることが好ましい。

- 15 該有機溶媒としては、例えば、ハロゲン化炭化水素（例、ジクロロメタン、クロロホルム、ジクロロエタン、トリクロロエタン、四塩化炭素等）、エーテル類（例、エチルエーテル、イソプロピルエーテル等）、脂肪酸エステル（例、酢酸エチル、酢酸ブチル等）、芳香族炭化水素（例、ベンゼン、トルエン、キシレン等）、アルコール類（例えば、エタノール、メタノール等）、アセトニトリルなどが用いられる。生体内分解性ポリマーまたはその塩の有機溶媒としてはなかでもジクロロメタンが好ましい。ヒドロキシナフトエ酸またはその塩の有機溶媒としてはアルコール類が好ましい。それぞれ別個に溶解した後
- 20 に混合してもよいし、これらは適宜の割合で混合された有機溶媒中に2者を溶解して用いてもよい。なかでも、ハロゲン化炭化水素とアルコール類との混液が好ましく、特にジクロロメタンとエタノールとの混液が好適である。

- 25 ジクロロメタンとの混有機溶媒としてエタノールを用いた場合におけるジクロロメタンとエタノールとの混有機溶媒中のエタノールの含有率は、一般的には約0.01～約50% (v/v)、より好ましくは約0.05～約40% (v/v)、特

に好ましくは約0.1～約30% (v/v)から選ばれる。

生体内分解性ポリマーの有機溶媒溶液中の濃度は、生体内分解性ポリマーの分子量、有機溶媒の種類によって異なるが、例えば、ジクロロメタンを有機溶媒として用いた場合、一般的には約0.5～約70重量%、より好ましくは約1～約60重量%、特に好ましくは約2～約50重量%から選ばれる。

ヒドロキシナフトエ酸またはその塩の有機溶媒中の濃度は、例えばジクロロメタンとエタノールの混液を有機溶媒として用いた場合、一般的には約0.01～約10重量%、より好ましくは約0.1～約5重量%、特に好ましくは約0.5～約3重量%から選ばれる。

- 10 このようにして得られたヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーの有機溶媒溶液中に、生理活性物質またはその塩を添加し、溶解あるいは分散させる。次いで、得られた生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩から成る組成物を含む有機溶媒溶液を水相中に加え、O（油相）／W（水相）エマルシ
- 15 ョンを形成させた後、油相中の溶媒を揮散ないしは水相中に拡散させ、マイクロカプセルを調製する。この際の水相体積は、一般的には油相体積の約1倍～約10,000倍、より好ましくは約5倍～約50,000倍、特に好ましくは約10倍～約2,000倍から選ばれる。

- 上記の外水相中には乳化剤を加えてもよい。該乳化剤は、一般に安定なO／
- 20 Wエマルションを形成できるものであればいずれでもよい。具体的には、例えば、アニオン性界面活性剤（オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウムなど）、非イオン性界面活性剤（ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル〔ツイーン(Tween)80、ツイーン(Tween)60、アトラスパウダー社〕、ポリオキシエチレンヒマシ油誘導体〔HCO-60、HCO-50、日光ケミカルズ〕など）、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、カル
- 25 ボキシメチルセルロース、レシチン、ゼラチン、ヒアルロン酸などが用いられ

る。これらの中の1種類か、いくつかを組み合わせ使用してもよい。使用の際の濃度は、好ましくは約0.01~10重量%の範囲で、さらに好ましくは約0.05~約5重量%の範囲で用いられる。

- 上記の外水相中には浸透圧調節剤を加えてもよい。該浸透圧調節剤としては、
5 水溶液とした場合に浸透圧を示すものであればよい。

該浸透圧調節剤としては、例えば、多価アルコール類、一価アルコール類、単糖類、二糖類、オリゴ糖およびアミノ酸類またはそれらの誘導体などが挙げられる。

- 上記の多価アルコール類としては、例えば、グリセリン等の三価アルコール
10 類、アラビトール、キシリトール、アドニトール等の五価アルコール類、マンニトール、ソルビトール、ズルシトール等の六価アルコール類などが用いられる。なかでも、六価アルコール類が好ましく、特にマンニトールが好適である。

上記の一価アルコール類としては、例えば、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコールなどが挙げられ、このうちエタノールが好ましい。

- 15 上記の単糖類としては、例えば、アラビノース、キシロース、リボース、2-デオキシリボース等の五炭糖類、ブドウ糖、果糖、ガラクトース、マンノース、ソルボース、ラムノース、フコース等の六炭糖類が用いられ、このうち六炭糖類が好ましい。

- 上記のオリゴ糖としては、例えば、マルトトリオース、ラフィノース糖等の
20 三糖類、スタキオース等の四糖類などが用いられ、このうち三糖類が好ましい。

上記の単糖類、二糖類およびオリゴ糖の誘導体としては、例えば、グルコサミン、ガラクトサミン、グルクロン酸、ガラクトン酸などが用いられる。

- 上記のアミノ酸類としては、L-体のものであればいずれも用いることができ、例えば、グリシン、ロイシン、アルギニンなどが挙げられる。このうちL-
25 -アルギニンが好ましい。

これらの浸透圧調節剤は単独で使用しても、混合して使用してもよい。

これらの浸透圧調節剤は、外水相の浸透圧が生理食塩水の浸透圧の約 1 / 50 ~ 約 5 倍、好ましくは約 1 / 25 ~ 約 3 倍となる濃度で用いられる。

有機溶媒を除去する方法としては、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法が用いられる。例えば、プロペラ型攪拌機またはマグネチックスターラーや
5 超音波発生装置などで攪拌しながら常圧もしくは徐々に減圧にして有機溶媒を蒸発させる方法、ロータリーエヴァポレーターなどを用いて真空度を調節しながら有機溶媒を蒸発させる方法、透析膜を用いて徐々に有機溶媒を除去する方法などが挙げられる。

このようにして得られたマイクロカプセルは遠心分離または濾過して分取し
10 た後、マイクロカプセルの表面に付着している遊離の生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩、薬物保持物質、乳化剤などを蒸留水で数回繰り返し洗浄し、再び蒸留水などに分散して凍結乾燥する。

製造工程中、粒子同士の凝集を防ぐために凝集防止剤を加えてもよい。該凝集防止剤としては、例えば、マンニトール、ラクトース、ブドウ糖、デンプン
15 類（例、コーンスターチ等）などの水溶性多糖、グリシンなどのアミノ酸、フィブリン、コラーゲンなどのタンパク質などが用いられる。なかでも、マンニトールが好適である。

また、凍結乾燥後、必要であれば、減圧下マイクロカプセルが同士が融着しない条件内で加温してマイクロカプセル中の水分および有機溶媒の除去を行っ
20 てもよい。好ましくは、毎分 10 ~ 20 °C の昇温速度の条件下で示差走査熱量計で求めた生体内分解性ポリマーの中間点ガラス転移温度よりも若干高い温度で加温する。より好ましくは生体内分解性ポリマーの中間点ガラス転移温度からこれより約 30 °C 高い温度範囲内で加温する。とりわけ、生体内分解性ポリマーとして乳酸-グリコール酸重合体を用いる場合には好ましくはその中間点
25 ガラス転移温度以上中間点ガラス転移温度より 10 °C 高い温度範囲、さらに好ましくは、中間点ガラス転移温度以上中間点ガラス転移温度より 5 °C 高い温度

範囲で加温する。

加温時間はマイクロカプセルの量などによって異なるものの、一般的にはマイクロカプセル自体が所定の温度に達した後、約12時間～約168時間、好ましくは約24時間～約120時間、特に好ましくは約48時間～約96時間である。

加温方法は、マイクロカプセルの集合が均一に加温できる方法であれば特に限定されない。

該加温乾燥方法としては、例えば、恒温槽、流動槽、移動槽またはキルン中で加温乾燥する方法、マイクロ波で加温乾燥する方法などが用いられる。このなかで恒温槽中で加温乾燥する方法が好ましい。

(ii) W/O/W法 (1)

まず、生体内分解性ポリマーまたはその塩の有機溶媒溶液を調製する。

該有機溶媒ならびに生体内分解性ポリマーまたはその塩の有機溶媒溶液中の濃度は、前記(I)(i)項に記載と同様である。また混有機溶媒を用いる場合には、その両者の比率は、前記(I)(i)項に記載と同様である。

このようにして得られた生体内分解性ポリマーまたはその塩の有機溶媒溶液中に、生理活性物質またはその塩を添加し、溶解あるいは分散させる。次いで、得られた生理活性物質またはその塩と生体内分解性ポリマーまたはその塩からなる組成物を含む有機溶媒溶液（油相）にヒドロキシナフトエ酸またはその塩の溶液〔該溶媒としては、水、アルコール類（例、メタノール、エタノール等）の水溶液、ピリジン水溶液、ジメチルアセトアミド水溶液等〕を添加する。この混合物をホモジナイザーまたは超音波等の公知の方法で乳化し、W/Oエマルションを形成させる。

次いで、得られた生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩から成るW/Oエマルションを水相中に加え、W（内水相）/O（油相）/W（外水相）エマルションを形成

させた後、油相中の溶媒を揮散させ、マイクロカプセルを調製する。この際の
外水相体積は一般的には油相体積の約1倍～約10,000倍、より好ましく
は約5倍～約5,000倍、特に好ましくは約10倍～約2,000倍から選
ばれる。

- 5 上記の外水相中に加えてもよい乳化剤や浸透圧調節剤、およびその後の調製
法は前記(I)(i)項に記載と同様である。

(iii) W/O/W法(2)

- まず、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩と生体内分解性ポリマーまたはそ
の塩の有機溶媒溶液を作成し、そうして得られた有機溶媒溶液を油相と称する。
10 該作成法は、前記(I)(i)項に記載と同様である。あるいは、ヒドロキシ
ナフトエ酸またはその塩と生体内分解性ポリマーをそれぞれ別々に有機溶媒溶
液として作成し、その後に混合してもよい。生体内分解性ポリマーの有機溶媒
溶液中の濃度は、生体内分解性ポリマーの分子量、有機溶媒の種類によって異
なるが、例えば、ジクロロメタンを有機溶媒として用いた場合、一般的には約
15 0.5～約70重量%、より好ましくは約1～約60重量%、特に好ましくは
約2～約50重量%から選ばれる。

次に生理活性物質またはその塩の溶液または分散液〔該溶媒としては、水、
水とアルコール類(例、メタノール、エタノール等)などとの混液〕を作成す
る。

- 20 生理活性物質またはその塩の添加濃度は一般的には0.001mg/ml～
10g/ml、より好ましくは0.1mg/ml～5g/mlで更に好ましく
は10mg/ml～3g/mlである。

- 溶解補助剤、安定化剤として公知のものをを用いてもよい。生理活性物質や添
加剤の溶解あるいは分散には活性が失われない程度に加熱、振とう、攪拌など
25 を行ってもよく、そうして得られた水溶液を内水相と称する。

上記により得られた内水相と油相とをホモジナイザーまたは超音波等の公知

の方法で乳化し、W/Oエマルションを形成させる。

混合する油相の体積は内水相の体積に対し、約1～約1000倍、好ましくは約2～100倍、より好ましくは約3～10倍である。

5 得られたW/Oエマルションの粘度範囲は一般的には約15～20℃で、約10～10,000cpで、好ましくは約100～5,000cpである。さらに好ましくは約500～2,000cpである。

次いで、得られた生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩から成るW/Oエマルションを水相中に加え、W（内水相）/O（油相）/W（外水相）エマルションを形成
10 させた後、油相中の溶媒を揮散ないしは外水相中に拡散させ、マイクロカプセルを調製する。この際の外水相体積は一般的には油相体積の約1倍～約10,000倍、より好ましくは約5倍～約50,000倍、特に好ましくは約10倍～約2,000倍から選ばれる。

上記の外水相中に加えてもよい乳化剤や浸透圧調節剤、およびその後の調製
15 法は前記（I）（i）項に記載と同様である。

（II）相分離法

本法によってマイクロカプセルを製造する場合には、前記（I）の水中乾燥法に記載した生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩の3者から成る組成物を含む有機溶
20 媒溶液にコアセルベーション剤を攪拌下徐々に加えてマイクロカプセルを析出、固化させる。該コアセルベーション剤は油相体積の約0.01～1,000倍、好ましくは約0.05～500倍、特に好ましくは約0.1～200倍から選ばれる。

コアセルベーション剤としては、有機溶媒と混和する高分子系、鉱物油系または植物油系の化合物等で生理活性物質またはその塩のヒドロキシナフトエ酸
25 またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩の複合体を溶解しない

ものであれば特に限定はされない。具体的には、例えば、シリコン油、ゴマ油、大豆油、コーン油、綿実油、ココナッツ油、アマニ油、鉱物油、*n*-ヘキサン、*n*-ヘプタンなどが用いられる。これらは2種類以上混合して使用してもよい。

5 このようにして得られたマイクロカプセルを分取した後、ヘプタン等で繰り返し洗浄して生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩からなる組成物以外のコアセルベーション剤等を除去し、減圧乾燥する。もしくは、前記（I）（i）の水中乾燥法で記載と同様の方法で洗浄を行った後に凍結乾燥、さらには加温乾燥する。

（III）噴霧乾燥法

10 本法によってマイクロカプセルを製造する場合には、前記（I）の水中乾燥法に記載した生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩の3者を含有する有機溶媒溶液をノズルを用いてスプレードライヤー（噴霧乾燥器）の乾燥室内に噴霧し、極めて短時間内に微粒化液滴内の有機溶媒を揮発させ、マイクロカプセルを調製する。
15 該ノズルとしては、例えば、二流体ノズル型、圧力ノズル型、回転ディスク型等がある。この後、必要であれば、前記（I）の水中乾燥法で記載と同様の方法で洗浄を行った後に凍結乾燥、さらには加温乾燥してもよい。

20 上述のマイクロカプセル以外の剤形としてマイクロカプセルの製造法（I）の水中乾燥法に記載した生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生体内分解性ポリマーまたはその塩を含む有機溶媒溶液を例えばロータリーエヴァポレーターなどを用いて真空度を調節しながら有機溶媒および水を蒸発させて乾固した後、ジェットミルなどで粉碎して微粉末（マイクロパーティクルとも称する）としてもよい。

25 さらには、粉碎した微粉末をマイクロカプセルの製造法（I）の水中乾燥法で記載と同様の方法で洗浄を行った後に凍結乾燥、さらには加温乾燥してもよい。

ここで得られるマイクロカプセルまたは微粉末は使用する生体内分解性ポリマーまたは乳酸-グリコール酸重合体の分解速度に対応した薬物放出が達成できる。

次に、本発明の生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩を含む徐放性組成物の製造法について例示する。本製造法においては生理活性物質として、生理活性ペプチドが好ましく用いられる。

(I V) 2ステップ法

生理活性物質またはその塩を上述の生理活性物質の配合量の定義で示した重量比率になるようにヒドロキシナフトエ酸またはその塩の有機溶媒溶液に加え、生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩を含有する有機溶媒溶液を作る。該有機溶媒としては、前記(I)(i)に記載と同様である。また混有機溶媒を用いる場合には、その両者の比率は、前記(I)(i)項に記載と同様である。

生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩を含有する組成物を析出させるための有機溶媒を除去する方法は、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法が用いられる。例えば、ロータリーエヴァポレーターなどを用いて真空度を調節しながら有機溶媒を蒸発させる方法などが挙げられる。

このようにして得られた生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩を含有する組成物の有機溶媒溶液を再度作り、徐放性組成物(マイクロスフェアまたは微粒子)を作製することができる。

該有機溶媒としては、例えば、ハロゲン化炭化水素(例、ジクロロメタン、クロロホルム、ジクロロエタン、トリクロロエタン、四塩化炭素等)、エーテル類(例、エチルエーテル、イソプロピルエーテル等)、脂肪酸エステル(例、酢酸エチル、酢酸ブチル等)、芳香族炭化水素(例、ベンゼン、トルエン、キシレン等)などが用いられる。これらは適宜の割合で混合して用いてもよい。なかでも、ハロゲン化炭化水素が好ましく、特にジクロロメタンが好適である。

次いで、得られた生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩を含有する組成物

を含む有機溶媒溶液を水相中に加え、O（油相）／W（水相）エマルジョンを形成させた後、油相中の溶媒を蒸発させ、マイクロスフェアを調製する。この際の水相体積は、一般的には、油相体積の約1倍～約10,000倍、より好ましくは約5倍～約5,000倍、特に好ましくは約10倍～約2,000倍から選ばれる。

上記の外水相中に加えてもよい乳化剤や浸透圧調節剤、およびその後の調製法は前記（I）（i）項に記載と同様である。

有機溶媒を除去する方法としては、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法が用いられる。例えば、プロペラ型攪拌機またはマグネチックスターラーなどで攪拌しながら、常圧もしくは徐々に減圧にして有機溶媒を蒸発させる方法、ロータリーエヴァポレーターなどを用いて真空度を調節しながら有機溶媒を蒸発させる方法などが挙げられる。

このようにして得られたマイクロスフェアは遠心分離または濾過して分取した後、マイクロスフェアの表面に付着している遊離の生理活性物質、ヒドロキシナフトエ酸、乳化剤などを蒸留水で数回繰り返し洗浄し、再び蒸留水などに分散して凍結乾燥する。

製造工程中、粒子同士の凝集を防ぐために凝集防止剤を加えてもよい。該凝集防止剤としては、例えば、マンニトール、ラクトース、ブドウ糖、デンプン類（例、コーンスターチ等）などの水溶性多糖、グリシンなどのアミノ酸、フィブリン、コラーゲンなどのタンパク質などが挙げられる。なかでも、マンニトールが好ましい。

また、凍結乾燥後、必要であれば、減圧下マイクロスフェア同士が融着しない条件内で加温してマイクロスフェア中の水分および有機溶媒の除去をさらに行ってもよい。

加温時間はマイクロスフェアの量などによって異なるものの、一般的にはマイクロスフェア自体が所定の温度に達した後、約12時間～約168時間、好

ましくは約24時間～約120時間、特に好ましくは約48時間～約96時間である。

加温方法は、マイクロスフェアの集合が均一に加温できる方法であれば特に限定されない。

- 5 該加温乾燥方法としては、例えば、恒温槽、流動槽、移動槽またはキルン中で加温乾燥する方法、マイクロ波で加温乾燥する方法などが用いられる。このなかで恒温槽中で加温乾燥する方法が好ましい。得られたマイクロスフェアは比較的均一な球状の形態をしており、注射投与時の抵抗が少なく、針つまりを起こしにくい。また、細い注射針を使うことができるため、注射時の患者の苦痛が軽減される。

10 (V) 1ステップ法

- 生理活性物質またはその塩を上述の生理活性物質の配合量の定義で示した重量比率になるようにヒドロキシナフトエ酸またはその塩の有機溶媒溶液に加え、生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩を含有する有機溶媒溶液を作り、徐放性製剤（マイクロスフェアまたは微粒子）を作製する。

15 該有機溶媒としては、前記(I)(i)に記載と同様である。また混有機溶媒を用いる場合には、その両者の比率は、前記(I)(i)項に記載と同様である。

- 20 次いで、生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩を含有する有機溶媒溶液を水相中に加え、O（油相）/W（水相）エマルジョンを形成させた後、油相中の溶媒を蒸発させ、マイクロスフェアを調製する。この際の水相体積は、一般的には油相体積の約1倍～約10,000倍、より好ましくは約5倍～約5,000倍、特に好ましくは約10倍～約2,000倍から選ばれる。

- 25 上記の外水相中に加えてもよい乳化剤や浸透圧調節剤、およびその後の調製法は前記(I V)項に記載と同様である。

本発明の徐放性組成物は、マイクロスフェア、マイクロカプセル、微粉末（マ

イクロパーティクル) など何れの形態であってもよいが、生理活性物質とヒドロキシナフトエ酸との2者から成る場合はマイクロスフェアが、生理活性物質とヒドロキシナフトエ酸と生体内分解性ポリマーとの3者から成る場合はマイクロカプセルが好適である。

5 本発明の徐放性組成物は、そのまままたはこれらを原料物質として種々の剤形に製剤化し、筋肉内、皮下、臓器などへの注射剤または埋め込み剤、鼻腔、直腸、子宮などへの経粘膜剤、経口剤(例、カプセル剤(例、硬カプセル剤、軟カプセル剤等)、顆粒剤、散剤等の固形製剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤等の液剤等)などとして投与することができる。

10 例えば、本発明の徐放性組成物を注射剤とするには、これらを分散剤(例、ツイーン(Tween) 80, HCO-60等の界面活性剤、ヒアルロン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム等の多糖類など)、保存剤(例、メチルパラベン、プロピルパラベンなど)、等張化剤(例、塩化ナトリウム、マンニトール、ソルビトール、ブドウ糖、プロリンなど)等と共に水性
15 懸濁剤とするか、ゴマ油、コーン油などの植物油と共に分散して油性懸濁剤として実際に使用できる徐放性注射剤とすることができる。

本発明の徐放性組成物の粒子径は、懸濁注射剤として使用する場合には、その分散度、通針性を満足する範囲であればよく、例えば、平均粒子径として約
0.1~300 μ m、好ましくは約0.5~150 μ mの範囲、さらに好ましくは約1から100 μ mの範囲である。
20

本発明の徐放性組成物を無菌製剤にするには、製造全工程を無菌にする方法、ガンマ線で滅菌する方法、防腐剤を添加する方法等が挙げられるが、特に限定されない。

本発明の徐放性組成物は、低毒性であるので、哺乳動物(例、ヒト、牛、豚、
25 犬、ネコ、マウス、ラット、ウサギ等)に対して安全な医薬などとして用いることができる。

本発明の徐放性組成物の投与量は、主薬である生理活性物質の種類と含量、
剤形、生理活性物質放出の持続時間、対象疾病、対象動物などによって種々異
なるが、生理活性物質の有効量であればよい。主薬である生理活性物質の1回
当たりの投与量としては、例えば、徐放性製剤が6ヵ月製剤である場合、好ま
しくは、成人1人当たり約0.01mg~10mg/kg体重の範囲、さらに
5 好ましくは約0.05mg~5mg/kg体重の範囲から適宜選ぶことができる。

1 回当たりの徐放性組成物の投与量は、成人1人当たり好ましくは、約0.
05mg~50mg/kg体重の範囲、さらに好ましくは約0.1mg~30
10 mg/kg体重の範囲から適宜選ぶことができる。

投与回数は、数週間に1回、1ヵ月に1回、または数ヵ月（例、3ヵ月、4
ヵ月、6ヵ月など）に1回等、主薬である生理活性物質の種類と含量、剤形、
生理活性物質放出の持続時間、対象疾病、対象動物などによって適宜選ぶこと
ができる。

15 本発明の徐放性組成物は、含有する生理活性物質の種類に応じて、種々の疾
患などの予防・治療剤として用いることができるが、例えば、生理活性物質が、
LH-RH誘導体である場合には、ホルモン依存性疾患、特に性ホルモン依存
性癌（例、前立腺癌、子宮癌、乳癌、下垂体腫瘍など）、前立腺肥大症、子宮
内膜症、子宮筋腫、思春期早発症、月経困難症、無月経症、月経前症候群、多
20 房性卵巢症候群等の性ホルモン依存性の疾患の予防・治療剤、および避妊（も
しくは、その休業後のリバウンド効果を利用した場合には、不妊症の予防・治
療）剤などとして用いることができる。さらに、性ホルモン非依存性であるが
LH-RH感受性である良性または悪性腫瘍などの予防・治療剤としても用い
ることができる。

25

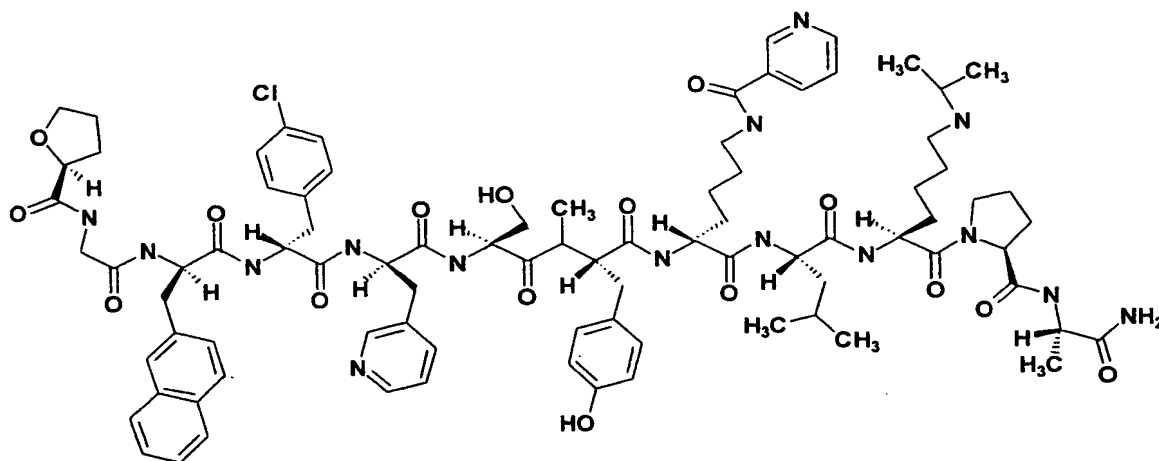
以下に実施例、実験例および比較例をあげて本発明をさらに具体的に説明す

るが、これらは本発明を限定するものではない。

実施例 1

N-(S)-Tetrahydrofur-2-oyl-Gly-D2Nal-D4ClPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(Nic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH₂ (以下ペプチドAと略記する) の酢酸塩 (TAP社製) 3429.6m および 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 (和光純薬工業製) 685.2mg をエタノール 15ml に溶解した。

(ペプチドAの構造式)



- 10 この溶液をロータリーエヴァポレーターを用いて徐々に減圧にし、有機溶媒を蒸発させた。この残留物をジクロロメタン 5.5ml に再溶解し、予め 18℃ に調節しておいた 0.1% (w/w) ポリビニルアルコール (EG-40、日本合成化学製) 水溶液 400ml 中に注入し、タービン型ホモミキサーを用いて 8,000rpm で攪拌し O/W エマルジョンとした。この O/W エマルジョンを室温で 3 時間攪拌してジ
- 15 クロロメタンを揮散させ、油相を固化させた後、75 μm の目開きの篩いを用いて篩過し、遠心分離機 (05PR-22、日立製作所) を用いて 2,000rpm、5 分間の条件でマイクロスフェアを沈降させて捕集した。これを再び蒸留水に分散後、さらに遠心分離を行い、遊離薬物等を洗浄し、マイクロスフェアを捕集した。捕集されたマイクロスフェアは少量の蒸留水を加えて再分散後、凍結乾燥して

粉末として得られた。マイクロスフェアの質量回収率は65%で、マイクロスフェア中のペプチドA含量および3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸/ペプチドAモル比はそれぞれ75.4%、1.94であった。

5 実施例 2

ペプチドAの酢酸塩 1785.1mg および3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 1370.4mg をエタノール 15ml に溶解した。この溶液をロータリーエヴァポレーターを用いて徐々に減圧にし、有機溶媒を蒸発させた。この残留物をジクロロメタン 10ml に再溶解し、予め18℃に調節しておいた0.1%(w/w)ポリビニルアルコール水溶液 1000ml 中に注入し、タービン型ホモミキサーを用いて 8,000rpm で攪拌しO/Wエマルジョンとした。その後の操作は実施例1に記載と同様にしてマイクロスフェアを得た。マイクロスフェアの質量回収率は58%で、マイクロスフェア中のペプチドA含量および3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸/ペプチドAモル比はそれぞれ54.3%、6.15であった。

15

実施例 3

ペプチドAの酢酸塩 1800mg、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 173mg および乳酸-グリコール酸共重合体(乳酸/グリコール酸=50/50(モル%)、重量平均分子量 10,100、数平均分子量 5,670、アルカリ滴定によるカルボキシル基量 268.8 μ mol/g、和光純薬工業製) 2g をジクロロメタン 6ml およびエタノール 0.2ml の混有機溶媒に溶解し、予め18℃に調節しておいた5%マンニトール含有0.1%(w/w)ポリビニルアルコール水溶液 900ml 中に注入し、タービン型ホモミキサーを用いて7,000rpm で攪拌しO/Wエマルジョンとした。このO/Wエマルジョンを室温で3時間攪拌してジクロロメタンおよびエタノールを揮散あるいは水相中に拡散させ、油相を固化させた後、75 μ mの目開きの篩を用いて篩過し、遠心分離機を用いて2,000rpm、5分間の条件でマイクロカプセル

25

を沈降させて捕集した。これを再び蒸留水に分散後、さらに遠心分離を行い、遊離薬物等を洗浄し、マイクロカプセルを捕集した。捕集されたマイクロカプセルは 250mg のマンニトールと少量の蒸留水を加えて再分散後、凍結乾燥して粉末として得られた。添加したマンニトールを計算で除外して求めたマイクロカプセルの質量回収率は 76%、マイクロカプセル中のペプチド A 含量および 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸/ペプチド A モル比はそれぞれ 34.7%、1.19 であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、84.6% であった。

10 実施例 4

ペプチド A の酢酸塩 1900mg、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 182mg および乳酸-グリコール酸共重合体（実施例 3 に同じ）1.9g をジクロロメタン 6ml およびエタノール 0.2ml の混有機溶媒に溶解し、予め 18℃ に調節しておいた 5% マンニトールと 0.05% L-アルギニン含有 0.1% (w/w) ポリビニルアルコール水溶液 900ml 中に注入し、タービン型ホモミキサーを用い、7,000rpm で攪拌して O/W エマルジョンとした。その後の操作は実施例 3 に記載と同様にしてマイクロカプセルを得た。添加したマンニトールを計算で除外して求めたマイクロカプセルの質量回収率は 85%、マイクロカプセル中のペプチド A 含量および 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸/ペプチド A モル比はそれぞれ 38.6%、0.83 であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、88.9% であった。

実施例 5

実施例 4 に記載の乳酸-グリコール酸共重合体を乳酸/グリコール酸 = 75/25 (モル%)、重量平均分子量 10,700、数平均分子量 6,100、アルカリ滴定によるカルボキシル基量 265.3 μ mol/g の乳酸-グリコール酸共重合体

に変更し、ジクロロメタン量を 6.5ml に変更した以外は、実施例 4 に記載と同様にしてマイクロカプセルを得た。添加したマンニトールを計算で除外して求めたマイクロカプセルの質量回収率は 87%、マイクロカプセル中のペプチド A 含量および 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸/ペプチド A モル比はそれぞれ
5 38.3%、0.92 であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、88.3% であった。

実施例 6

ペプチド A の酢酸塩 1800mg および乳酸-グリコール酸共重合体 (乳酸/グリ
10 ール酸=50/50 (モル%)、重量平均分子量 12,700、数平均分子量 7,090、アルカリ滴定によるカルボキシル基量 $209.2 \mu \text{mol/g}$ 、和光純薬工業製) 1.8g をジクロロメタン 7.2ml に溶解した溶液に、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸ナトリウム塩 196mg を水 2.3ml に溶解した溶液を加えホモジナイザーで乳化し W/O エマルションを調製した。このエマルションを予め 18℃ に調節しておい
15 た 5% マンニトール含有 0.1% (w/w) ポリビニルアルコール水溶液 800ml 中に注入し、タービン型ホモミキサーを用いて 7,000rpm で攪拌し W/O/W エマルションとした。この W/O/W エマルションを室温で 3 時間攪拌してジクロロメタンおよびエタノールを揮散あるいは水相中に拡散させ、油相を固化させた後、
75 μm の目開きの篩いを用いて篩過し、遠心分離機を用いて 2,000rpm、5 分
20 間の条件でマイクロカプセルを沈降させて捕集した。これを再び蒸留水に分散後、さらに遠心分離を行い、遊離薬物等を洗浄し、マイクロカプセルを捕集した。捕集されたマイクロカプセルは 250mg のマンニトールと少量の蒸留水を加えて再分散後、凍結乾燥して粉末として得られた。添加したマンニトールを計算で除外して求めたマイクロカプセルの質量回収率は 79%、マイクロカプセル中のペプチド A 含量および 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸/ペプチド A モ
25 ル比はそれぞれ 32.8%、0.91 であった。そしてこの実現含量を仕込み

含量で除して求めた封入効率は、81.2%であった。

実験例 1

実施例 1、2 で得られた各マイクロスフェア約 40 mg、または実施例 3 ~
 5 で得られた各マイクロカプセル約 60 mg を 0.5 ml の分散媒 (0.25
 mg のカルボキシメチルセルロース, 0.5 mg のポリソルベート 80, 25
 mg のマンニトールを溶解した蒸留水) に分散して 8 ~ 10 週齢雄性 SD ラッ
 トの背部皮下に 22 G 注射針で投与した。投与から所定時間後にラットを屠殺
 して投与部位に残存するマイクロスフェアまたはマイクロカプセルを取り出し、
 10 この中のペプチド A を定量してそれぞれの初期含量で除して求めた残存率を表
 1 に示す。

表 1

	1 日	1 週	2 週	3 週	4 週
15 実施例 1	73%	30%	11%	6%	6%
実施例 2	85%	37%	9%	1%	
実施例 3	70%	31%	14%	9%	
実施例 4	77%	29%	11%	10%	6%
実施例 5	81%	44%	25%	17%	13%

20

実施例 1 および 2 の実験結果より、ペプチド A と 3-ヒドロキシ-2-ナフト
 エ酸の 2 者からなるマイクロスフェアからのペプチド A の放出は、両者の比率
 の違いにより異なり、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸の割合が多いほうがペ
 プチド A の放出が速やかであった。また、実施例 3、4 および 5 の実験結果よ
 25 り、乳酸-グリコール酸共重合体を加えた 3 者からなるマイクロカプセルでは、
 2 者のみからなるマイクロスフェアからのペプチド A の放出性とは異なる結果

が得られ、さらには乳酸-グリコール酸共重合体の組成、重量平均分子量および末端カルボキシル基量の異なるものを組み合わせることによりその放出挙動を制御できることが明らかとなった。

5 実施例 7

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅ (以下、ペプチド B と略記する。武田薬品製) の酢酸塩 0.8g を 0.8ml の蒸留水に溶解した溶液を、DL-乳酸重合体 (重量平均分子量 36,000、数平均分子量 18,000、ラベル化定量法によるカルボキシル基量 70.4 μ mol/g) 3.08g および 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 0.12g をジクロロメタン 5ml およびエタノール 0.3ml の混有機溶媒で溶解した溶液と混合してホモジナイザーで乳化し、W/O エマルションを形成した。次いでこの W/O エマルションを、予め 15℃ に調節しておいた 0.1% (w/w) ポリビニルアルコール (EG-40、日本合成化学製) 水溶液 800ml 中に注入し、タービン型ホモミキサーを用いて 7,000rpm で攪拌し W/O/W エマルションとした。この W/O/W エマルションを室温で 3 時間攪拌してジクロロメタンおよびエタノールを揮散ないしは外水相中に拡散させ、油相を固化させた後、75 μ m の目開きの篩を用いて篩過し、次いで遠心分離機 (05PR-22、日立製作所) を用いて 2,000rpm、5 分間の条件でマイクロカプセルを沈降させて捕集した。これを再び蒸留水に分散後、さらに遠心分離を行い、遊離薬物等を洗浄し、マイクロカプセルを捕集した。捕集されたマイクロカプセルは少量の蒸留水を加えて再分散後、凍結乾燥して粉末として得られた。マイクロカプセルの質量回収率は 46%、マイクロカプセル中のペプチド B 含量は 21.3%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸含量は 2.96% であった。そしてこれらの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、ペプチド B において 106.6%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸において 98.6% であった。

実施例 8

ペプチド B の酢酸塩 1.2g を 1.2ml の蒸留水に溶解した溶液を、DL-乳酸重合体（重量平均分子量 25,200、数平均分子量 12,800、ラベル化定量法によるカルボキシル基量 $62.5 \mu \text{mol/g}$ ）4.62g および 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 0.18g をジクロロメタン 7.5ml およびエタノール 0.45ml の混有機溶媒で溶解し、W/O エマルションを形成した。

次いでこの W/O エマルションを、予め 15℃ に調節しておいた 0.1% (w/w) ポリビニルアルコール（EG-40、日本合成化学製）水溶液 1200ml 中に注入し、タービン型ホモキサーを用いて 7,000rpm で攪拌し W/O/W エマルションとした。

この W/O/W エマルションを室温で 3 時間攪拌してジクロロメタンおよびエタノールを揮散ないしは外水相中に拡散させ、油相を固化させた後、75 μm の目開きの篩を用いて篩過し、次いで遠心分離機（05PR-22、日立製作所）を用いて 2,000rpm、5 分間の条件でマイクロカプセルを沈降させて捕集した。

これを再び蒸留水に分散後、さらに遠心分離を行い、遊離薬物等を洗浄し、マイクロカプセルを捕集した。捕集されたマイクロカプセルは少量の蒸留水に再分散し、マンニトール 0.3g を添加して溶解した後凍結乾燥して粉末として得られた。添加したマンニトールを計算で除外して求めたマイクロカプセルの質量回収率は 55.2%、マイクロカプセル中のペプチド B 含量は 21.3%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸含量は 2.96% であった。そしてこれらの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、ペプチド B において 99.7%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸において 102.2% であった。

実施例 9

実施例 8 に記載の DL-乳酸重合体を、DL-乳酸重合体（重量平均分子量 28,800、数平均分子量 14,500、ラベル化定量法によるカルボキシル基量 $78.1 \mu \text{mol/g}$ ）とした以外は実施例 8 に記載と同様にしてマイクロカプセル粉末を

得た。添加したマンニトールを計算で除外して求めたマイクロカプセルの質量回収率は50.2%、マイクロカプセル中のペプチドB含量は20.8%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸含量は2.78%であった。そしてこれらの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、ペプチドBにおいて103.4%、
5 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸において92.7%であった。

比較例 1

ペプチドBの酢酸塩1.2gを1.2mlの蒸留水に溶解した溶液を、実施例9と同じDL-乳酸重合体4.8gをジクロロメタン7.8mlで溶解した溶液と混合してホモ
10 ジナイザーで乳化し、W/Oエマルションを形成した。次いでこのW/Oエマルションを、予め15℃に調節しておいた0.1% (w/w) ポリビニルアルコール (EG-40、日本合成化学製) 水溶液1200ml中に注入し、タービン型ホモミキサーを用い、7,000rpmでW/O/Wエマルションとした。以下実施例8と同様に操作してマイクロカプセル粉末を得た。添加したマンニトールを計算で除外し
15 て求めたマイクロカプセルの質量回収率は53.6%、マイクロカプセル中のペプチドB含量は12.1%、であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めたペプチドBの封入率は60.6%であって、実施例9に比べてはるかに低い。従って3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸の添加によりペプチドBの封入効率が上昇したことは明らかである。

20

実施例 10

ペプチドBの酢酸塩1.00gを1.00mlの蒸留水に溶解した溶液を、DL-乳酸重合体(重量平均分子量49,500、数平均分子量17,500、ラベル化定量法によるカルボキシル基量45.9 μ mol/g) 3.85gおよび3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸
25 0.15gをジクロロメタン7.5mlおよびエタノール0.4mlの混有機溶媒で溶解した溶液と混合してホモジナイザーで乳化し、W/Oエマルションを形成した。

- 以下 0.1% (w/w) ポリビニルアルコール水溶液の液量を 1000ml、マンニトールの添加量を 0.257g とした以外は実施例 8 に記載と同様にしてマイクロカプセル粉末を得た。添加したマンニトールを計算で除外して求めたマイクロカプセルの質量回収率は 53.8%、マイクロカプセル中のペプチド B 含量は 18.02%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸含量は 2.70% であった。そしてこれらの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、ペプチド B において 90.1%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸において 90.1% であった。

実施例 11

- 10 ペプチド B の酢酸塩 1.202g を 1.20ml の蒸留水に溶解した溶液を、DL-乳酸重合体 (重量平均分子量 19,900、数平均分子量 10,700、ラベル化定量法によるカルボキシル基量 $104.6 \mu\text{mol/g}$) 4.619 および 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 0.179g をジクロロメタン 7.5ml およびエタノール 0.45ml の混有機溶媒で溶解した溶液と混合してホモジナイザーで乳化し、W/O エマルジョンを形成した。
- 15 以下マンニトールの添加量を 0.303g とした以外は実施例 8 に記載と同様にしてマイクロカプセル粉末を得た。添加したマンニトールを計算で除外して求めたマイクロカプセルの質量回収率は 61.4%、マイクロカプセル中のペプチド B 含量は 15.88%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸含量は 2.23% であった。そしてこれらの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、ペプチド B にお
- 20 いて 77.75%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸において 75.05% であった。

実施例 12

- ペプチド B の酢酸塩 1.00g を 1.00ml の蒸留水に溶解した溶液を、DL-乳酸重合体 (重量平均分子量 25,900、数平均分子量 7,100、末端カルボキシル基量 $98.2 \mu\text{mol/g}$) 3.85g および 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 0.15g をジクロロメタン 5.5ml およびエタノール 0.35ml の混有機溶媒で溶解した溶液と混合してホモ

ジナイザーで乳化し、W/Oエマルションを形成した。その後の操作は実施例 7 に記載と同様にしてマイクロカプセル粉末を得た。マイクロカプセルの質量回収率は 48.8%、マイクロカプセル中のペプチド B 含量は 21.31%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸含量は 2.96%であった。そしてこれらの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、ペプチド B において 106.5%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸において 98.7%であった。

比較例 2

ペプチド B の酢酸塩 1.00g を 1.00ml の蒸留水に溶解した溶液を、実施例 1 2 と同じ DL-乳酸重合体 4.00g をジクロロメタン 5ml で溶解した溶液と混合してホモジナイザーで乳化し、W/Oエマルションを形成した。その後の操作は実施例 7 に記載と同様にしてマイクロカプセル粉末を得た。マイクロカプセルの質量回収率は 48.7%、マイクロカプセル中のペプチド B 含量は 11.41%であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めたペプチド B の封入率は 57.1%であって、実施例 1 2 に比べてはるかに低い。従って 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸の添加によりペプチド B の封入効率が上昇したことは明らかである。

実施例 1 3

DL-乳酸重合体（重量平均分子量 30,600、数平均分子量 14,400、ラベル化定量法によるカルボキシル基量 $63.0 \mu\text{mol/g}$ ）89.2g をジクロロメタン 115.3g で溶解した溶液と、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 3.45g をジクロロメタン 38.8g およびエタノール 6.27g の混有機溶媒で溶解した溶液を混合して 28.5℃ に調節した。この有機溶媒溶液から 224g を量り取り、ペプチド B の酢酸塩 22.3g を 20ml の蒸留水に溶解して 44.9℃ に加温した水溶液と混合して 5 分間攪拌して粗乳化した後ホモジナイザーを用い、10,000rpm、5 分間の条件にて乳化し W/Oエマルションを形成した。次いでこの W/Oエマルションを 16.3℃ に冷却

後に、予め 15℃に調節しておいた 0.1% (w/w) ポリビニルアルコール (EG-40、日本合成化学製) 水溶液 20 リットル中に 5 分間で注入し、HOMOMIC LINE FLOW (特殊機化製) を用いて 7,000rpm で攪拌し W/O/W エマルジョンとした。この W/O/W エマルジョンを 15℃で 3 時間攪拌してジクロロメタンおよびエタノールを揮散ないしは外水相中に拡散させ、油相を固化させた後、75 μ m の目開きの篩を用いて篩過し、次いで遠心機 (H-600S、国産遠心器製) を用いて 2,000rpm で連続的にマイクロカプセルを沈降させて捕集した。捕集されたマイクロカプセルは少量の蒸留水に再分散し、90 μ m の目開きの篩を用いて篩過した後マンニトール 9.98g を添加して溶解した後凍結乾燥して粉末として得られた。添加したマンニトールを計算で除外して求めたマイクロカプセルの質量回収率は 66.5%、マイクロカプセル中のペプチド B 含量は 22.3%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸含量は 2.99%であった。そしてこれら実現含量を仕込み含量で除して求めた封入率は、ペプチド B において 104.5%、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸において 102.1%であった。

15

実験例 2

実施例 8 に記載のマイクロカプセル約 45mg を 0.3ml の分散媒 (0.15 mg のカルボキシメチルセルロース、0.3mg のポリソルベート 80、15mg のマンニトールを溶解した蒸留水) に分散して 7 週齢雄性 SD ラットの背部皮下に 22G 注射針で投与した。投与から所定時間後にラットを屠殺して投与部位に残存するマイクロカプセルを取り出し、この中のペプチド B および 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸を定量してそれぞれの初期含量で除して求めた残存率および使用した D L-乳酸重合体の特性を表 2 に示す。

20

表 2

 実施例 8 記載のマイクロカプセルの DL-乳酸重合体の特性

5	Mw (Da)	25, 200
	[COOH] (μ mol/g-ポリマー)	62. 5

 残存率：

		ペプチド B	3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸
10	1 日	93. 1%	91. 0%
	2 週	84. 2%	54. 1%
	4 週	75. 7%	34. 5%
	8 週	63. 0%	5. 1%
	1 2 週	46. 9%	0. 0%
15	1 6 週	31. 7%	0. 0%
	2 0 週	24. 0%	0. 0%

表 2 から明らかなように、実施例 8 に記載のマイクロカプセルは生理活性物質を高含量に含んでいるのにも関わらず、投与後一日おける生理活性物質の残

20 存率は 90% 以上と飛躍的に高い。従って、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸は徐放性製剤中に生理活性物質を高含量で取り込ませる効果だけでなく、生理活性物質の初期の過剰放出を非常によく抑止する効果を併せ持つのは明白である。そして、このマイクロカプセルは非常に長期にわたって生理活性物質を一定速度で放出させることを実現している。また 12 週以降、3-ヒドロキシ-

25 2-ナフトエ酸はマイクロカプセルから完全に消失しているが、生理活性物質の放出はそれまでと同じ一定速度を持続していて、徐放性製剤として有効であ

る。

実験例 3

5 実施例 7、9～12 および比較例 1 で得られた各マイクロカプセルを実験例 2 に記載と同様に投与ならびに回収したのち、この中のペプチド B を定量してそれぞれの初期含量で除して求めた残存率および使用した DL-乳酸重合体の特性を表 3 に示す。

表 3

DL-乳酸重合体の特性：

10		実施例 7	実施例 9	実施例 10	実施例 11	実施例 12	比較例 1
	Mw (Da)	36,000	28,800	49,500	19,900	25,900	28,800
	[COOH] (μ mol/g-ポリマー)	70.4	78.1	45.9	104.6	98.2	78.1
15	残存率						
	1 日	92.9%	94.6%	93.0%	92.3%	89.4%	83.1%
	2 週	82.2%	82.2%	80.4%	37.5%	34.3%	73.0%
	4 週	69.6%	69.2%	58.3%	30.7%	29.7%	65.3%
	8 週	62.1%	56.0%	36.6%	24.6%	20.8%	
20	12 週	47.9%	39.4%	30.8%	18.6%		
	16 週	32.2%		28.0%			
	20 週 (測定せず)			22.9%			
	24 週	11.6%					
	28 週	4.1%					

25

表 2 および表 3 から明らかなように、実施例 7～12 に記載のマイクロカプセ

5 ルの、投与後一日おける残存率はすべて約90%ないしはそれ以上であり、比較例1のそれに比較して飛躍的に高い。従って、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸は徐放性製剤中に生理活性物質を高含量で取り込ませる効果だけでなく、生理活性物質の初期の過剰放出を非常によく抑止する効果も併せ持つのは明白である。なかでも実施例7～9に記載のマイクロカプセルを用いた実験例より、
10 生体内分解性ポリマーとして重量平均分子量が約20,000～約50,000でかつラベル化定量法によるカルボキシル基量が約50～90 $\mu\text{mol/g}$ であるDL-乳酸を用いた場合には、非常に長期にわたり生理活性物質を一定した速さで放出させることができる。

実験例4

実施例7で得られたマイクロカプセルを実験例2に記載の方法でラットに皮下投与した後、採血して得られた血清中のペプチドBの濃度とテストステロン濃度を測定した結果を表4に示す。

15

表4

	12 週	16 週	24 週	26 週	28 週
ペプチドB (ng/ml)	1.10	1.65	1.46	2.73	1.30
テストステロン (ng/ml)	0.18	0.45	0.68	0.41	0.71

20

表4から明らかなように生理活性物質の血中濃度は28週後まで一定の値に維持されており、これはマイクロカプセルから生理活性物質が28週にわたって持続的に放出されたことを意味している。そして、その期間中、薬効を示すテストステロン濃度は常に正常値レベル以下に抑制されており、製剤中に3-ヒ
25 ドロキシ-2-ナフトエ酸を含有しても生理活性物質は、その活性を損なうことなく、長期にわたってマイクロカプセル中に安定に存在し、徐放されている

ことが明らかとなった。

実施例 1 4

強塩基性イオン交換カラム (SeP-Pak Plus QMAカートリッジ、ウォーターズ社製)
5 に 0.5 N 水酸化ナトリウム水溶液/メタノールの混液 (v/v=1/5) を通して塩
化物イオンを排出した。流出液が、硝酸酸性下で硝酸銀溶液を添加しても白濁し
なくなった後、水/メタノールの混液 (v/v=1/5) を通して過剰のアルカリを排
出した。流出液が中性であることを確認した後、ペプチド B の酢酸塩 18.8 mg を水
/メタノールの混液 (v/v=1/5) 2 ml に溶解して、上記前処理を施したカラムを通
10 過させた。この流出液と、この後さらに混液のみを 6 ml 通過させたものとを併
せ、これに 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 5.91 mg を水/メタノールの混液
(v/v=1/5) 1 ml に溶解したものを混合して、ロータリーエヴァポレーターで濃
縮した。混合液に白濁を生じたら水 2 ml を加えて攪拌し、遠心 (3000 rpm、20℃、15分) して上澄みを除去、さらに数回水洗を繰り返した後に沈殿
15 を真空乾燥 (40℃、一夜) して、ペプチド B の 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ
酸塩 4.09 mg を得た。

この塩に水 0.5 ml を加えて室温で 4 時間攪拌した後、液を 0.2 μm フィル
ターで濾過して HPLC で定量した。ペプチド B および 3-ヒドロキシ-2-ナ
フトエ酸の濃度はそれぞれ 2.37 g/L、0.751 g/L であった。攪拌後
20 も塩の一部は溶け残っており上記値はペプチド B の 3-ヒドロキシ-2-ナフ
トエ酸塩の水溶解度と考えられ、ペプチド B の酢酸塩の水溶解度が 1000 g/L
以上であるのに比較して 100 分の 1 以下に低下している。このことは、ペプ
チド B の 3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸塩がペプチド B の徐放性製剤として
利用できることを示している。

25

産業上の利用可能性

本発明の徐放性組成物は生理活性物質を高含量で含有し、かつその初期過剰放
出を抑制し長期にわたる安定した放出速度を実現することができる。

請 求 の 範 囲

1. 生理活性物質またはその塩、ヒドロキシナフトエ酸またはその塩および生
- 5 体内分解性ポリマーまたはその塩を含有してなる徐放性組成物。
2. 生理活性物質が生理活性ペプチドである請求の範囲第1項記載の徐放性組成物。
3. 生理活性物質が LH-RH 誘導体である請求の範囲第2項記載の徐放性組成物。
4. ヒドロキシナフトエ酸が3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸である請求の範
- 10 囲第1項記載の徐放性組成物。
5. 生体内分解性ポリマーが α -ヒドロキシカルボン酸重合体である請求の範囲第1項記載の徐放性組成物。
6. α -ヒドロキシカルボン酸重合体が乳酸-グリコール酸重合体である請求項の範囲第5項記載の徐放性組成物。
- 15 7. 乳酸とグリコール酸の組成モル%が100/0~40/60である請求の範囲第6項記載の徐放性組成物。
8. 乳酸とグリコール酸の組成モル%が100/0である請求の範囲第7項記載の徐放性組成物。
9. 重合体の重量平均分子量が約3,000~約100,000である請求の
- 20 範囲第6項記載の徐放性組成物。
10. 重量平均分子量が約20,000~50,000である請求の範囲第9項記載の徐放性組成物。
11. LH-RH 誘導体が式
5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z
[式中、YはDLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2NalまたはDHis(ImBzl)を示し、
25 ZはNH-C₂H₅またはGly-NH₂を示す。]で表されるペプチドである請求の範囲第3

項記載の徐放性組成物。

- 1 2. 重合体の末端のカルボキシル基量が重合体の単位質量（グラム）あたり
5 0ー9 0マイクロモルである請求の範囲第 6 項記載の徐放性組成物。
- 1 3. ヒドロキシナフトエ酸またはその塩と LH-RH 誘導体またはその塩のモル
5 比が 3 対 4 ないし 4 対 3 である請求の範囲第 3 項記載の徐放性組成物。
- 1 4. 徐放性組成物中、LH-RH 誘導体またはその塩が 1 4 % (w/w) から 2 4 %
(w/w) 含有される請求の範囲第 1 3 項記載の徐放性組成物。
- 1 5. 生理活性物質またはその塩が微水溶性または水溶性である請求の範囲第
1 項記載の徐放性組成物。
- 10 1 6. 注射用である請求の範囲第 1 項記載の徐放性組成物。
- 1 7. 生理活性物質またはその塩、生体内分解性ポリマーまたはその塩および
ヒドロキシナフトエ酸またはその塩の混合液から溶媒を除去することを特徴と
する請求の範囲第 1 項記載の徐放性組成物の製造法。
- 1 8. 生体内分解性ポリマーまたはその塩およびヒドロキシナフトエ酸または
15 その塩を含有する有機溶媒溶液に生理活性物質またはその塩を混合、分散し、
次いで有機溶媒を除去することを特徴とする請求の範囲第 1 7 項記載の徐放性
組成物の製造法。
- 1 9. 生理活性物質またはその塩が生理活性物質またはその塩を含有する水溶
液である請求の範囲第 1 8 項記載の徐放性組成物の製造法。
- 20 2 0. 生理活性物質の塩が遊離塩基または酸との塩である請求の範囲第 1 7 項
記載の製造法。
- 2 1. 請求の範囲第 1 項記載の徐放性組成物を含有してなる医薬。
- 2 2. 請求の範囲第 3 項記載の徐放性組成物を含有してなる前立腺癌、前立腺
肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、子宮線維腫、思春期早発症、月経困難症もし
25 くは乳癌の予防、治療剤または避妊剤。
- 2 3. 生理活性物質のヒドロキシナフトエ酸塩および生体内分解性ポリマーま

たはその塩を含有してなる徐放性組成物。

24. ヒドロキシナフトエ酸またはその塩を用いることを特徴とする徐放性組成物からの生理活性物質の初期過剰放出を抑制する方法。

25. ヒドロキシナフトエ酸またはその塩を用いることを特徴とする徐放性組成物への生理活性物質の封入効率を向上する方法。

26. 生理活性ペプチドのヒドロキシナフトエ酸塩。

27. 水溶性または微水溶性である請求の範囲第26項記載の生理活性ペプチドのヒドロキシナフトエ酸塩。

28. 生理活性ペプチドのヒドロキシナフトエ酸塩を含有してなる徐放性組成物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/00086

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁶ A61K47/30, A61K47/12, A61K37/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K47/30, A61K47/12, A61K37/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 9-315997, A2 (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 9 December, 1997 (09. 12. 97) & WO, 9735563, A2 & AU, 9720432, A1 & EP, 889722, A2	1-28
A	JP, 8-259460, A2 (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 8 October, 1996 (08. 10. 96) & WO, 9622786, A1 & AU, 9644591, A1	1-28

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
21 April, 1999 (21. 04. 99)

Date of mailing of the international search report
11 May, 1999 (11. 05. 99)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁶ A 61 K 47/30, A 61 K 47/12, A 61 K 37/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁶ A 61 K 47/30, A 61 K 47/12, A 61 K 37/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS ONLINE

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 9-315997, A2 (武田薬品工業株式会社) 9. 12月. 1997 (09. 12. 97) & W0, 9735563, A2 & AU, 9720432, A1 & EP, 88972 2, A2	1-28
A	JP, 8-259460, A2 (武田薬品工業株式会社) 8. 10月. 1996 (08. 10. 96) & W0, 9622786, A1 & AU, 9644591, A1	1-28

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

21. 04. 99

国際調査報告の発送日

11.05.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鶴見 秀紀

4 C

8 4 1 5

電話番号 03-3581-1101 内線 3452